

Deficiencias de azufre y nitrógeno en cebada cervecera: efectos sobre la generación del rendimiento y la calidad industrial

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Pablo Prystupa

Ingeniero Agrónomo - Universidad de Buenos Aires- 1992

Lugar de trabajo: Cátedra de Fertilidad y Fertilizantes e INBA
Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Flavio Hernán Gutiérrez Boem

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor of Philosophy (University of Kentucky)

Consejero de Estudios

Eduardo Antonio Pagano

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Biológicas (Universidad de Granada, España)

JURADO DE TESIS

JURADO

Juan Alberto Galantini

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional del Sur)

Magister en Ciencias Agrarias (Universidad Nacional del Sur)

Doctor en Química Agraria (Università degli Studi di Bari, Italia)

JURADO

Déborah Paola Rondanini

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Daniel Vázquez Peyronel

Químico Farmacéutico (Universidad de la República, Uruguay)

Master of Human Nutrition Sciences (University of Manitoba, Canada)

Doctor of Philosophy (University of Manitoba, Canada)

Fecha de defensa de la tesis: 14 de julio de 2023

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

Pablo Prystupa

Publicaciones derivadas de la tesis

Prystupa P., G. Ferraris, L. Ventimiglia, T. Loewy, L. Couretot, R. Bergh, F. Gómez y F.H. Gutierrez Boem. 2018. Environmental control of malting barley response to nitrogen in the Pampas, Argentina. *International Journal of Plant Production* 12: 123-137.

Prystupa P., A. Peton, E. Pagano y F.H. Gutierrez Boem. 2019. Sulphur fertilization of barley crops improves malt extract and fermentability. *Journal of Cereal Science* 85: 238-235.

Prystupa P., A. Peton, E. Pagano, G. Ferraris, L. Ventimiglia, T. Loewy, F. Gómez y F. H. Gutierrez-Boem. 2021. Grain hordein content and malt quality as affected by foliar nitrogen fertilisation at heading. *Journal of the Institute of Brewing* 127: 224–23.

Prystupa P. y F.H. Gutierrez-Boem Flavio. 2023. Crop growth rate during the critical period is associated with grain number under sulfur deficiency in barley crops subjected to different levels of nitrogen availability. *Crop & Pasture Science* 74 312-323.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	v
ABREVIATURAS.....	xi
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xiv
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1,1 Antecedentes	2
1,1,1. El cultivo de cebada cervecera	2
1,1,2 Generación del rendimiento en cebada cervecera.....	3
1,1,3 Calidad industrial en cebada cervecera	6
1,1,3,1 Breve descripción de la producción de malta y cerveza	6
1,1,3,2. Índices de calidad maltera	7
1,1,3,3. Las proteínas de reserva en cebada cervecera.....	10
1,1,3,4. Las proteínas y la calidad industrial de la cebada	12
1,1,4 Disponibilidad de nutrientes y producción de granos	15
1,1,5. La fertilización nitrogenada durante espigazón en cultivos de cebada cervecera	17
1,2. Objetivos generales y organización de la tesis.....	18
CAPÍTULO 2: CONTROL AMBIENTAL DE LA RESPUESTA DE LA CEBADA CERVECERA A LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN LAS PRIMERAS ETAPAS DEL CULTIVO	23
2,1. Introducción	24
2,2. Materiales y métodos	27
2,3. Resultados	33
2,3,1. Rendimiento	33
2,3,2. Componentes del rendimiento.....	38
2,3,3. Calibre y fracciones de tamaño	39
2,3,4. Concentración de proteína en el grano	41
2,4. Discusión	45
2,4,1. Efectos del N y regulación climática del rendimiento, proteína y calibre del grano.....	45
2,4,2. Calibre del grano y peso individual del grano	47
2,4,3. Determinación de la concentración de proteína en el grano	48
CAPÍTULO 3: DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN CULTIVOS DE CEBADA DEFICIENTES EN AZUFRE Y NITRÓGENO	51
3,1 Introducción	52
3,2. Materiales y Métodos.....	54
3,2,1. Experimentos.....	54

3,2,2. Mediciones	55
3,2,3. Análisis estadístico	56
3,4. Resultados	58
3,5. Discusión	63
CAPITULO 4: EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN AZUFRADA Y SU INTERACCIÓN CON LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA SOBRE LA CALIDAD MALTERA.....	68
4,1. Introducción	69
4,2. Materiales y métodos	71
4,2,1. Experimentos.....	71
4,2,2. Mediciones	72
4,2,3. Análisis estadístico.....	75
4,3. Resultados	76
4,3,1 Rendimiento, calibre y composición del grano	76
4,3,2. Parámetros de calidad maltera y su relación con la composición del grano	80
4,4. Discusión	84
CAPITULO 5: EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN ESPIGAZÓN SOBRE LA CALIDAD MALTERA	90
5,1. Introducción	91
5,2. Materiales y métodos	93
5,2,1 Experimentos.....	93
5,2,2. Mediciones	94
5,2,3. Análisis estadístico.....	95
5,3. Resultados	96
5,3,1. Rendimiento en grano, tamaño y concentración de proteína	96
5,3,2. Hordeína del grano	99
5,3,3. Parámetros de calidad de la malta y su relación con el tamaño y la composición del grano.....	102
5,4. Discusión	105
5,4,1. Aspectos agronómicos	105
5,4,2. Calidad de la malta y sus determinantes	106
CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES	109
6,1. Contrastación de las hipótesis	114
6,1,1. Capítulo 2	114
6,1,2. Capítulo 3	115
6,1,3. Capítulo 4.....	116
6,1,4 Capítulo 5	117
6,2. Conclusiones	119
6,2,1. Aportes originales al conocimiento científico.....	119

6,2,2 Aportes al esclarecimiento de temas poco conocidos previamente	122
6,2,3. Aportes que confirman los resultados anteriores	123
6,3. Posibles implicancias de esta tesis.....	125
6,3,1 Posibles aplicaciones prácticas en el manejo de cultivos de lo observado en esta tesis.....	125
6,3,2. Líneas de investigación que pueden derivarse de esta tesis	126
7. BIBLIOGRAFÍA.....	128

INDICE DE CUADROS

Cuadro 2-1: Información de los sitios y dosis de N aplicadas	27
Cuadro 2-2: Valores de p del análisis de la varianza para los efectos de la dosis de N y el ambiente (lugar x año), y su interacción sobre las variables de cebada cervecera.	31
Cuadro 2-3: Rendimiento, calibre y concentración proteica del grano en función de la fertilización nitrogenada (N) en cada sitio	32
Cuadro 2-4: Modelos explicativos obtenidos utilizando características de suelo y clima como variables independientes.....	33
Cuadro 2-5: Número de granos por unidad de superficie y peso individual de los granos en función de la fertilización nitrogenada	34
Cuadro 3-1: ANOVA (valores p) del rendimiento en grano, del número de granos y de la biomasa aérea en madurez del cultivo, así como de la tasa de crecimiento del cultivo, de la radiación interceptada acumulada (IPAR) y de la eficiencia del uso de la radiación durante el período crítico.....	54
Cuadro 3-2: Rendimiento en grano (Rend.), número de granos, biomasa aérea en madurez del cultivo, tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y radiación interceptada acumulada (IPAR) (media \pm error estándar) durante el período crítico afectado por la fertilización azufrada (S), la fertilización nitrogenada (N) y la interacción experimento X fertilización nitrogenada.....	55
Cuadro 4-1: ANOVA (valores p) del rendimiento en grano, el calibre del grano, la concentración de proteína y S en el grano, la concentración total de hordeínas, la proporción de las fracciones de hordeínas y los parámetros de calidad de la malta...	72
Cuadro 4-2: a) Coeficientes de correlación entre el extracto de malta y las características del grano y b) Modelos de regresión para el extracto de malta.....	77
Cuadro 5-1: Análisis de varianza (valores de p) del rendimiento en grano, el calibre, la concentración de proteína del grano y la eficiencia aparente de recuperación de N.	90
Cuadro 5-2: Análisis de varianza (valores de p) de la concentración total de hordeínas, la proporción de las fracciones de hordeínas y los parámetros de calidad de malta.....	95
Cuadro 5-3: Modelos explicativos del extracto de malta.....	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1: Relación entre el calibre (porcentaje >2,5 mm) y el peso individual del grano, la fracción granulométrica 1 (porcentaje >2,8 mm) y la fracción granulométrica 2 (porcentaje entre 2,5 y 2,8 mm)	36
Figura 2-2: Relación entre la concentración de proteína del grano y el rendimiento.	43
Figura 2-3: A) Relación entre el incremento de la concentración de proteína del grano y el incremento del rendimiento en grano (ambos calculados como la diferencia entre el tratamiento N0 y el tratamiento N1-3 con el mayor rendimiento) y B) relación entre la concentración de proteína del grano y el rendimiento en los tratamientos sin (N0) y con el mayor nivel de N (N3).	44
Figura 2,4: Relación entre la concentración de proteína del grano y el cociente entre la disponibilidad de N (la suma del N-nitrato del suelo hasta 60 cm de profundidad y el N añadido como fertilizante) y el rendimiento en grano.	45
Figura 3-1: Relación entre el número de granos y la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) durante el período crítico para la determinación de los granos en cultivos de cebada con una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S, expresada de cuatro maneras diferentes: valores absolutos (A); valores relativos calculados dividiendo la media de cada tratamiento de un experimento por el valor medio de ese experimento (Número de granos relativo Exp y TCC relativo Exp) (B); valores relativos calculados dividiendo la media de cada tratamiento de un experimento por el valor medio de los niveles de fertilización N correspondiente de ese experimento (Número de granos relativo NxExp y TCC relativo NxExp) (C); valores relativos calculados dividiendo la media de cada tratamiento de un experimento por la media de los niveles de fertilización S de ese experimento (Número de granos relativo SxExp y TCC relativo SxExp) (D). Cada símbolo representa la media de un tratamiento en un sitio experimental.	61
Figura 3-2: Relación entre la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y la radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (IPAR) (A), y la eficiencia en el uso de la radiación (EUR) (B) durante el período crítico para la determinación del número de granos en cultivos de cebada con una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S.	62
Figura 4-1: Cromatogramas comparados A) dos muestras contrastantes del sitio 18 (azul: N0S1; rojo: N4S1) y B) extraído de Celus et al. (2006) y utilizado como referencia para la identificación de las familias de hordeínas.....	71
Figura 4-2: Cambios en el rendimiento de los granos (A), la concentración de proteína en los granos (B), la concentración de S en los granos (C), la relación N/S en los granos (D), el extracto de malta (E), la dureza de la malta (F) y la ALA (G) en cultivos de cebada sujetos a una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S.	78
Figura 4-3: Tamaño del grano (A), concentración total de hordeínas en los granos (B), proporción de hordeínas B (C), hordeínas C (D), hordeínas D (E) y hordeínas γ (F), y la relación entre las hordeínas B y C (G) según los tres niveles de disponibilidad de N y los dos niveles de S en todos los experimentos.....	79

Figura 4-4: Relación entre el extracto de malta y la concentración total de hordeína de los granos.	83
Figura 5-1: Relación entre el rendimiento en grano (A), la concentración de proteína del grano (B), el calibre (C), el Δ rendimiento en grano (D), el Δ concentración de proteína (E) y el Δ calibre (F) y la dosis de fertilización nitrogenada basal.	97
Figura 5-2 Hordeínas total (A), hordeínas B (B), hordeínas C, (C), hordeínas D (D), hordeínas γ (E), hordeínas B/hordeínas C (E), extracto de malta (F), ALA (H) y dureza de la malta en cultivos de cebada sin (Nh0) y con (Nh1) fertilización nitrogenada en espigazón.....	100
Figura 5-3: Relación entre el extracto de malta y (A) la concentración total de hordeína de los granos (u) y (B) la concentración de proteína del grano (%).	104
Figura 6-1: Esquema conceptual de los efectos del nitrógeno sobre los procesos estudiados en esta tesis.....	111
Figura 6-2: Esquema conceptual de los efectos del azufre sobre los procesos estudiados en esta tesis.....	112

ABREVIATURAS

A: Ambiente

ALA: atenuación límite aparente

ARG: Argiudoll

CPGNe1-Ne0: respuesta de la concentración de proteína del grano a la fertilización en espigazón

DN: dosis de fertilizante nitrogenado

e.: ético

ERA: eficiencia de recuperación aparente

EUR: eficiencia en el uso de la radiación

FRI: fracción de radiación interceptada

F1: fracción de calibre 1 (% > 2,8 mm)

F1rel: fracción de calibre relativo 1

F2rel: fracción de calibre relativo 2

F2: fracción de calibre 2 (% entre 2,8-2,5 mm)

GSrel: calibre relativo

IPAR: radiación interceptada acumulada

LAT: latitud

MO: materia orgánica

Mr: peso molecular

N: nitrógeno

Ndisp / Rend: relación entre la disponibilidad de N (N-nitrato del suelo hasta 60 cm de profundidad + el N añadido como fertilizante) y el rendimiento en grano

NG: es el número de granos

NS: N-nitrato en los 60 cm superiores del suelo

Número de Granos RelativoExp: relación entre el número de granos de cada tratamiento y el valor medio del número de grano en el experimento

Número de Granos RelativoN_xExp: relación entre el número de granos de cada tratamiento y el valor medio del número de grano en el nivel de fertilización nitrogenada correspondiente a dicho tratamiento en el experimento

Número de Granos RelativoS_xExp: relación entre el número de granos de cada tratamiento y el valor medio del número de grano en el nivel de fertilización azufrada correspondiente a dicho tratamiento en el experimento

P: fósforo

PIG: peso individual del grano

PP: precipitaciones

PP_{cc}: la precipitación durante el ciclo completo del cultivo

REND: rendimiento

RI: radiación incidente

RT: radiación transmitida

S: azufre

SD: siembra directa

t: típico

T_{CC}: temperatura media durante el ciclo completo del cultivo

TCC: tasa de crecimiento del cultivo

TCC RelativoExp: relación entre el TCC de cada tratamiento y el valor medio del TCC en el experimento

TCC RelativoN_xExp: relación entre la TCC de cada tratamiento y el valor medio de la TCC en el nivel de fertilización nitrogenada correspondiente a dicho tratamiento en el experimento

TCC RelativoS_xExp: relación entre la TCC de cada tratamiento y el valor medio de la TCC en el nivel de fertilización azufrada correspondiente a dicho tratamiento en el experimento

T_{LG}: temperatura media durante el período de llenado del grano

T_{PC}: temperatura media (°C) durante el periodo crítico para la determinación del número de granos (40 a 10 días previos a espigazón)

u.a.: unidades arbitrarias

VIF: factores de inflación de la varianza

Resumen

Las deficiencias de nitrógeno y azufre son limitantes importantes del rendimiento de los cultivos de cebada. Además, forman parte de las moléculas de las proteínas determinantes de su calidad industrial. Los objetivos generales de esta tesis son caracterizar y cuantificar los efectos de la fertilización nitrogenada (durante las primeras etapas del cultivo y espigazón) y de la fertilización azufrada sobre el rendimiento y su generación, la calidad comercial y algunos importantes parámetros de la calidad maltera y su relación con las proporciones de las distintas fracciones de hordeínas. Se realizaron distintas redes de ensayos a campo utilizando el cultivar Scarlett en el área de producción de cebada de la Provincia de Buenos Aires. La respuesta a la fertilización nitrogenada basal dependió del contenido de materia orgánica del suelo, del tipo de suelo, y de la temperatura y las precipitaciones durante el ciclo de cultivo. El contenido proteico del grano dependió de la disponibilidad de nitrógeno y del rendimiento alcanzado. Los cambios en el número de granos (y por lo tanto en el rendimiento) en respuesta a la fertilizaciones azufrada y nitrogenada estuvieron asociadas con los cambios en la tasa de crecimiento del cultivo durante el período crítico (40 a 10 días previos a espigazón). La fertilización azufrada aumentó el extracto y la fermentabilidad de la malta y disminuyó su dureza. Tanto la fertilización azufrada como la nitrogenada modificaron las proporciones de los distintos tipos de hordeínas. Sin embargo, se observó que el extracto de malta estaba más relacionado con el contenido total de hordeínas o de proteínas que con el tipo de hordeínas de la malta. Por último, se observó que los efectos de la fertilización nitrogenada durante espigazón sobre la calidad maltera y la composición de las hordeínas fueron similares a los efectos de la fertilización basal.

Palabras clave: cebada cervecera, nitrógeno, azufre, calidad industrial, hordeínas

Abstract

Nitrogen and sulphur deficiencies are important yield limiting factors for grain yield in barley crops. Moreover, they are part of the protein molecules that determine the industrial quality of this cereal. The general objectives of this thesis are to characterise and quantify the effects of nitrogen fertilisation (during early stages of cultivation and heading) and sulphur fertilisation on yield and its generation, commercial quality and some important parameters of malting quality and their relationship with the proportions of the different hordein fractions. Different groups of crops experiments were carried out in the barley production area of the Province of Buenos Aires using the Scarlett cultivar. It was observed that the response to basal nitrogen fertilisation depends on soil organic matter content, soil type, temperature and rainfall during the growing season. Grain protein content depended on nitrogen availability and the yield achieved. Changes in grain number (and hence yield) in response to sulphur and nitrogen fertilisation were associated with changes in crop growth rate during the critical period (forty to ten days prior to heading). Sulphur fertilisation increased malt extract and fermentability and decreased malt hardness. Both sulphur and nitrogen fertilisation changed the proportions of the different types of hordeins. However, malt extract was found to be more related to total hordein or protein content than to the type of hordein in the malt. Finally, it was observed that the effects of nitrogen fertilisation during heading on malt quality and hordein composition were similar to the effects of basal nitrogen fertilisation.

Keywords: malting barley, nitrogen, sulphur, industrial quality, hordeins

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1. El cultivo de cebada cervecera

La historia del cultivo de la cebada es tan antigua como la de la agricultura. Existen registros de su cultivo en las primitivas civilizaciones del Asia menor y del centro de Asia hace unos 10000 años (Ulrich, 2014). La importancia de este cultivo se mantiene hasta la actualidad. La cebada es el cuarto cereal que más se cultiva en el mundo: de alrededor de 500 millones de hectáreas cultivadas con cereales, el 7% (cerca de 51 millones de hectáreas) corresponden a cebada (FAOSTAT, 2022).

El principal uso de la cebada es la alimentación animal: aproximadamente el 70% de la producción mundial es destinada a este fin (Ulrich, 2014). Una fracción menor, alrededor del 30%, es transformado industrialmente para obtener malta, que luego se emplea para elaborar cerveza y, en menor medida, whisky y otros productos alimenticios. El valor comercial de la cebada destinada a las malterías suele ser superior al de la cebada forrajera, por lo que existe un marcado interés entre muchos productores por obtener cereal que sea aceptable para este fin. En este caso, el manejo del cultivo se realiza con el doble objetivo de obtener altos rendimientos y una calidad aceptable para las malterías.

La producción de cebada en la Argentina ha aumentado marcadamente en los últimos 20 años: mientras que la producción anual promedio entre las campañas 2000/1 y 2004/5 fue de 740000 Tn, entre los años 2016/7 y 2021/2 ascendió a 4100000 Tn (Estimaciones Agrícolas, 2022). Al contrario de lo que ocurre a nivel mundial, el destino mayoritario de la producción es cervecero: en promedio, entre el 2016/7 y el

2020/1 se destinó el 30% de la producción a la industria maltera local, se exportó el 33% como cervecera y el 36% como forrajera (Cebada Cervecera, 2021).

Para ser utilizado en la producción de malta, el cereal debe cumplir con una serie de requisitos. Una de las características exigidas es que la concentración de proteínas del grano esté comprendida entre el 10 y el 12% aproximadamente (Briggs, 1998). Por lo tanto, el manejo de la fertilización (en particular la nitrogenada) es fundamental para alcanzar altos rendimientos y una adecuada calidad industrial. Los efectos de la fertilización nitrogenada sobre la generación del rendimiento y la calidad de este cereal ya han sido estudiados, aunque quedan muchos aspectos por analizar. Los efectos de la fertilización azufrada han sido mucho menos estudiados aún.

1.1.2 Generación del rendimiento en cebada cervecera

En la cebada, como en la mayoría de los cultivos de cereales, el rendimiento está estrechamente relacionado con el número de granos por unidad de superficie (Savin y Slafer, 1991; Salvagiotti et al., 2017; Zhang et al., 2019). Un estrés en cualquier momento del ciclo del cultivo puede provocar una reducción del número de granos, pero la magnitud del efecto depende de la fase de crecimiento en la que se produce. El periodo del ciclo del cultivo en el que el número de granos (y, por tanto, el rendimiento) es más sensible al estrés suele denominarse periodo crítico (para la determinación del número de granos). Mediante la aplicación de sombreado del cultivo en diferentes momentos del ciclo, se ha establecido que el periodo crítico en el trigo se produce desde 30 días antes hasta 10 días después de la antesis (Savin y Slafer, 1991).

Recientemente se ha observado al comparar cultivares que el número de granos está más relacionado al número potencial de espiguillas (que se fija temprano en el ciclo

del cultivo, alrededor de la iniciación de las aristas) y no a su supervivencia (Thirulogachandar et al., 2021; Thirulogachandar y Schnurbusch, 2021). Sin embargo, cuando se aplicaron tratamientos de sombreado del cultivo en diferentes momentos del ciclo, se ha establecido que el periodo crítico en la cebada de dos hileras se produce desde 40 hasta 10 días antes de espigazón (Arisnabarreta y Miralles, 2008).

En el cultivo de trigo existe abundante evidencia que indica que existe una relación entre el peso seco de la espiga en antesis y el número de granos (Fischer, 1985; Savin y Slafer, 1991; Demotes-Mainard y Jeuffroy, 2004; Ferrante et al., 2012). Esta relación también se ha observado en cebada (Prystupa et al., 2004; Arisnabarreta y Miralles, 2015). El número de granos por unidad de biomasa de la espiga (conocido como eficiencia de fructificación) varía cuando se comparan los cultivares, pero es menos afectado por los factores ambientales (Ferrante et al., 2012; Curin et al., 2021). La biomasa de la espiga en antesis refleja la cantidad de fotoasimilados destinados a la espiga, y un alto suministro de fotoasimilados a la espiga es un factor clave para la supervivencia de los primordios florales y, por lo tanto, para un alto rendimiento del cultivo (Fischer, 1984; Arisnabarreta y Miralles, 2010; González et al., 2011). El peso seco de la espiga en antesis podría considerarse como el producto de tres factores: la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) durante el periodo de crecimiento de la espiga, la duración del periodo de crecimiento de la espiga y la proporción de la biomasa destinada a la espiga (Fischer, 1984). El peso seco de la espiga en antesis está determinado en gran medida por el crecimiento del cultivo durante el período de crecimiento activo de la espiga (Fischer, 1975, 1985; Zhang et al., 2019) que coincide en gran medida con el período crítico (Arisnabarreta y Miralles, 2008). Por lo tanto, la TCC durante el período crítico está fuertemente asociada con el número de granos por

unidad de superficie (Arisnabarreta y Miralles, 2008). La duración del periodo de crecimiento de la espiga y la proporción de biomasa destinada a la espiga también afectan al peso de la espiga, pero su efecto suele ser menor que el de la TCC, especialmente cuando se consideran los efectos de las variaciones ambientales sobre el número de granos, y no las variaciones genéticas (Fischer, 2008; Zhang et al., 2019). Dado que la TCC durante el crecimiento de la espiga se asocia positivamente con la radiación interceptada y la duración del período de crecimiento de la espiga se asocia negativamente con las temperaturas, el cociente fototérmico durante el período de crecimiento de la espiga (es decir, la relación de la radiación interceptada media diaria y la temperatura) también se asocia positivamente con el número de granos (Fischer, 1985; Savin y Slafer, 1991; Cossani et al., 2009).

La relación entre el número de granos y el peso de las espigas o el crecimiento del cultivo durante el periodo crítico se ha establecido comparando cultivos de trigo y cebada sometidos a variaciones en los cultivares, la densidad de plantas, la intensidad de la radiación y las localizaciones (Fischer, 1985; Savin y Slafer, 1991; Arisnabarreta y Miralles, 2008; Zhang et al., 2019). Esta relación también fue observada en cultivos de trigo y cebada sometidos a deficiencias de nitrógeno (N) (Fischer, 1993; Demotes-Mainard y Jeuffroy, 1999, 2004; Arisnabarreta y Miralles, 2010; Ferrante et al., 2012; Arisnabarreta y Miralles, 2015). Por el contrario, la relación entre el número de granos y el peso de las espigas o el crecimiento del cultivo durante el periodo crítico no ha sido estudiada en cultivos de trigo o cebada sujetos a deficiencias de azufre (S).

1.1.3 Calidad industrial en cebada cervecera

1.1.3.1 Breve descripción de la producción de malta y cerveza

La cebada se emplea para producir malta, la principal materia prima en la fabricación de la cerveza. El malteo es una germinación limitada realizada bajo condiciones controladas (Briggs, 1998; Rani y Bhardwaj, 2021). Este proceso industrial consta de tres etapas: remojo, germinación y secado (Briggs, 1998; Palmer, 2006; Mosher y Trantham, 2017). Durante el remojo, la cebada es sumergida en agua y los granos se hidratan. Cuando comienza a emerger la radícula, los granos son transferidos a la cámara de germinación: grandes recipientes de un metro o menos de profundidad donde pueden caber hasta 200 o 300 Ton de cebada, usualmente llamados saladines. En estas cámaras se le inyecta aire húmedo a temperatura controlada para disminuir la concentración de dióxido de carbono, suministrar oxígeno y mantener la temperatura en el intervalo adecuado para esta etapa (entre 15 y 19°C). La germinación se interrumpe cuando el “acróspiro” (nombre que se le da al coleoptile en la industria maltera) ha alcanzado una longitud equivalente a las tres cuartas partes de la longitud del grano. La malta verde, es decir los granos germinados, es luego transferida a la cámara de secado donde se le inyecta aire a alta temperatura, en principio a 50°C para extraer la humedad de los granos y luego a temperaturas de alrededor de 80°C para “curar” la malta. Finalmente, se le extrae las raicillas y el “acróspiro” y se obtiene la malta.

Durante el proceso de malteado se forman diversas enzimas hidrolíticas (Briggs, 1998; Palmer, 2006; Bamforth y Fox, 2020; Rani y Bhardwaj, 2021). Entre ellas se encuentran las enzimas amilolíticas necesarias para la fabricación de la cerveza. Durante esta etapa, las enzimas hidrolíticas catalizan la degradación de los β -glucanos y de los

pentosanos, los polisacáridos más abundantes en la pared celular de la cebada. También se produce una degradación parcial de las proteínas del endosperma y se inicia la degradación de algunos gránulos de almidón. Como consecuencia, se produce una modificación física del endosperma: el grano se vuelve más blando y, después del secado, se rompe fácilmente (se vuelve friable).

La elaboración de la cerveza comienza con la maceración: la malta molida se mezcla con agua y se incuba a la temperatura adecuada para que el almidón y las dextrinas sean convertidas en azúcares simples por la acción de las amilasas (Briggs et al., 2004; Mosher y Trantham, 2017). Esta mezcla se filtra empleando la misma malta molida y macerada como filtro. De esta manera se separan la fase líquida (una solución conocida como mosto) de los restos sólidos que se desechan. El conjunto de los solutos presentes en el mosto se denomina extracto. El mosto se mezcla con lúpulo y se hierve durante la etapa conocida como cocimiento. Durante esta etapa se inactivan las enzimas que actuaron durante la maceración. Luego el mosto se enfría y se realiza la fermentación con el agregado de levaduras.

1.1.3.2. Índices de calidad maltera

La calidad de la cebada cervecera es un conjunto de características del grano que le permite a la industria elaborar cerveza con las cualidades requeridas por el mercado en forma eficiente (Burger y LaBerge, 1985; Davies 2016 -en Bamforth 2016). Es decir, una cebada cervecera de calidad es aquella que permite obtener una malta de calidad de manera eficiente y, una malta de calidad es aquella que permite obtener una cerveza de calidad de manera eficiente. Para evaluar la calidad, las muestras de cebada son malteadas en pequeñas malterías denominadas micromalterías bajo condiciones

controladas y estandarizadas (Briggs, 1998; Davies 2016 -en Bamforth 2016). Con las muestras de malta obtenidas se realizan diversas determinaciones que estiman distintos aspectos que hacen a su calidad. Muchas de estas determinaciones simulan uno o más pasos del proceso de fabricación de la cerveza.

Una medida rápida y simple para establecer la calidad de una malta es evaluar su dureza (Rani y Bhardwaj, 2021). Esta medida indica la intensidad de modificación física del endosperma durante el malteo. La modificación es un término algo impreciso pero muy usado en maltería que comprende todos los cambios deseables, físicos y químicos, que ocurren durante la transformación de un grano en malta. La modificación física comprende la transformación de un grano duro en una estructura friable. Esto ocurre como consecuencia, principalmente, de la degradación de las paredes celulares del endosperma (Briggs, 1998)

El principal índice de la calidad maltera es el extracto de malta (Briggs et al., 2004; Rani y Bhardwaj, 2021; Pahl et al., 2016; Swanston et al., 2014). El extracto se determina midiendo el peso específico de un mosto estandarizado (conocido como Mosto Congreso) que se obtiene macerando en agua una muestra de malta molida bajo condiciones controladas. El peso específico es un estimador de la concentración de solutos en el mosto al finalizar la maceración y, por lo tanto, del rendimiento industrial por unidad de malta durante esta primera etapa de la elaboración de la cerveza.

La capacidad de un mosto de servir como sustrato para el proceso de la fermentación se denomina fermentabilidad. Esta es una característica compleja que depende, en primera instancia, de la capacidad del mosto de suministrar nutrientes a las levaduras. Estos microorganismos requieren azúcares fermentables, aminoácidos libres

y algunos micronutrientes como minerales y vitaminas (Briggs et al., 2004). El indicador de fermentabilidad más difundido es la “atenuación límite aparente” (ALA) (Pahl et al., 2016). Se denomina atenuación a la disminución del peso específico del mosto que ocurre durante la fermentación debido a la disminución de azúcares y a la acumulación de etanol (que tiene una densidad menor al agua). Si un mosto fermenta durante un tiempo prolongado, el proceso de la fermentación se detiene y el valor de atenuación al que se llega es conocido como atenuación límite. La ALA es la atenuación límite que ocurre en un mosto Congreso que es puesto a fermentar en condiciones estandarizadas (Boulton, 2013; Briggs, 1998).

Las determinaciones de calidad descritas son lentas y costosas. Por ello en la comercialización del grano de cebada se utilizan ciertas características que se correlacionan con la calidad maltera, principalmente la concentración de N o proteínas y el calibre. A esta estimación de la calidad basada en mediciones simples y rápidas se las conoce como calidad comercial, porque es la que se evalúa durante la comercialización del cereal. Una de las principales características que se evalúa es la concentración proteica. La concentración óptima se encuentra entre el 10 y el 12%. Otra característica importante es el calibre de los granos. La determinación del calibre se realiza pasando una muestra de granos por un juego de tres zarandas, cuyos orificios tienen un largo tal que permite pasar a todos los granos y un ancho de 2,8, 2,5 y 2,2 mm respectivamente en cada zaranda. Este instrumento permite clasificar las muestras en cuatro fracciones según el ancho de los granos: mayor a 2,8 mm (fracción 1), entre 2,8 y 2,5 mm (fracción 2), entre 2,5 y 2,2 mm (fracción 3) y menor a 2,2 mm (fracción 4). El estándar de comercialización vigente en nuestro país determina que las partidas de este cereal deben tener menos de 3% de la fracción no retenida por la zaranda de 2,2 mm (fracción 4) y

más de 85% de la suma de las fracciones retenidas en las zarandas de 2,5 y 2,8 mm (fracción 1 + fracción 2). En esta tesis me referiré a la suma de las fracciones retenidas en las zarandas de 2,5 y 2,8 mm como “calibre”. En las malterías, los granos de tamaño menor a 2,5 mm suelen ser descartados, ya que presentan un mayor nivel de dormición y se hidratan más rápidamente que los gruesos, determinando así una heterogeneidad indeseada al momento del procesamiento de los granos (Briggs, 1998). Otra característica perjudicial para la elaboración de la malta es que son más resistentes al ataque enzimático, lo cual causa desuniformidad en su procesamiento (Briggs, 1998).

Una de las consecuencias más usuales de la fertilización nitrogenada es incrementar la concentración proteica y disminuir el calibre de los granos (Eagles et al., 1995; Stark y Brown, 1987; Zhao et al., 2006). Dado que el extracto de malta se asocia negativamente con la concentración proteica y con el calibre de los granos, la fertilización nitrogenada suele disminuir el extracto de malta (Eagles et al., 1995; García del Moral et al., 1998). Los efectos de la fertilización azufrada sobre la calidad de la malta han sido poco estudiados.

1.1.3.3. Las proteínas de reserva en cebada cervecera

Las proteínas vegetales han sido clasificadas por Osborne en cuatro categorías de acuerdo a su solubilidad (Osborne, 1907; citado por Finnie y Svensson, 2014). Las albúminas son las proteínas solubles en agua, las globulinas son las solubles en soluciones salinas diluidas, las prolaminas son solubles en mezclas de alcohol y agua; y las glutelinas son solubles en ácidos o álcalis diluidos. Comparando secuencias de aminoácidos se ha observado que algunas proteínas clasificadas por su solubilidad como glutelinas, son muy similares a las prolaminas. Estas proteínas no son solubles en

alcohol debido a que forman polímeros de alto peso molecular (Mr) estabilizados por puentes disulfuro intermoleculares. Si mediante un agente reductor se rompen estas uniones intermoleculares, estas proteínas pasan a ser solubles en alcohol. Actualmente dichas proteínas también son consideradas prolaminas (Shewry y Tatham, 1990).

Las proteínas vegetales pueden clasificarse, de acuerdo con sus funciones, en estructurales y metabólicas, protectoras y de reserva (Finnie y Svensson, 2014; Shewry y Haldford, 2002). En los granos de cereales, las prolaminas constituyen el principal grupo de proteínas de reserva (Shewry y Tatham, 1990). Constituyen más de la mitad de las proteínas presentes en los granos de la mayoría de los cereales (con la excepción del arroz y la avena) (Finnie y Svensson, 2014; Shewry y Tatham, 1990). Deben su nombre a la abundancia de prolina y glutamina en su composición.

Las prolaminas reciben nombres distintos en las diversas especies de cereales: en trigo se llaman gliadinas, en maíz zeatinas, y en cebada reciben el nombre particular de hordeínas. Las hordeínas se clasifican en cuatro grupos: B, C, D y γ (Finnie y Svensson, 2014; Shewry y Tatham, 1990). Las hordeínas B son las más abundantes: entre el 70 y el 80% de las hordeínas corresponden a este grupo. Se caracterizan por ser ricas en S: el 2,5% de los aminoácidos que la componen es cisteína y el 0,6% es metionina (Finnie y Svensson, 2014; Shewry et al., 1980). El Mr está comprendido entre 35000 y 46000 y se encuentra en una forma “agregada” por la presencia de puentes disulfuro entre cadenas (Shewry y Tatham, 1990).

Las hordeínas C comprenden entre el 10 y el 12% del total de hordeínas. Se caracterizan por ser pobres en S: no posee cisteína y sólo trazas de metionina (Finnie y Svensson, 2014; Shewry et al., 1980). Su Mr está comprendido entre 59000 y 72000.

Las hordeínas D comprenden menos del 5% del total de hordeínas (Shewry et al., 1983). Posee una concentración de S intermedio entre las B y las C (Finnie y Svensson, 2014; Field et al., 1982). Se caracteriza por su alto Mr, de alrededor de 105000.

Las hordeínas γ son menos abundantes que las D. Tienen un alto contenido de S y un Mr similar a las hordeínas B de las que suelen ser difíciles de separar (Shewry y Tatham, 1990).

1.1.3.4. Las proteínas y la calidad industrial de la cebada

Desde las investigaciones pioneras realizadas por Bishop (1930a; 1930b), se acepta que el extracto de malta está relacionado negativamente con la concentración de proteínas del grano y positivamente con el calibre del mismo. (Bishop, 1930a; 1930b; García del Moral et al., 1998). El efecto negativo de las proteínas se debe a que las hordeínas envuelven los gránulos de almidón, inhibiendo su hidrólisis durante la maceración, primer paso en la fabricación de la cerveza (Rani y Bhardwaj, 2021; Slack et al., 1979).

Además, existen otros problemas relacionados al exceso de proteínas o a su incompleta degradación durante el malteo. El exceso de polipéptidos al finalizar la maceración puede dificultar la filtración del mosto (Briggs, 1998). En la cerveza, el exceso de proteínas puede determinar la formación de complejos de proteínas y polifenoles que son el principal causante de turbidez (Briggs, 1998). Por otra parte, es necesario disponer de una cierta concentración de compuestos nitrogenados solubles al completar la maceración. La incompleta degradación de las proteínas durante el malteo pueden producir deficiencias de los aminoácidos necesarios para la multiplicación de las

levaduras durante la fermentación (Briggs, 1998). Las proteínas disueltas en la cerveza contribuyen a su aroma y a la formación de la espuma (Briggs, 1998).

Las diferencias en la concentración proteica y en el calibre de los granos no pueden explicar totalmente las variaciones en el extracto de malta. Por ej., en Australia, Eagles et al. (1995) observaron que variaciones interanuales del extracto de malta no podían ser atribuidas sólo a las variaciones en la concentración proteica de los granos. Se ha propuesto que las variaciones en la cantidad y composición de hordeínas podrían explicar las variaciones en el extracto de malta (y en otros índices de calidad maltera) mejor que la concentración proteica total, pero no se dispone de información concluyente al respecto. Baxter y Wainwright (1979) clasificaron las hordeínas en tres fracciones (A, B y C) y observaron que cuanto menor era la concentración relativa de la proteína B mayor era el extracto de malta. La correspondencia de esta clasificación de las hordeínas con la actualmente utilizada (descrita en el ítem anterior) ha sido puesta en duda (Smith, 1990).

En trabajos posteriores, donde la clasificación de las hordeínas estaba de acuerdo con la actualmente utilizada (Shewry y Tatham, 1990), se han encontrado asociaciones positivas entre la relación entre las hordeínas B/C y el extracto de malta tanto cuando se compararon distintas variedades (Peltonen et al., 1994) como cuando se compararon muestras de una misma variedad provenientes de distintas zonas geográficas (Molina Cano et al., 2002, 2004). Esto estaría indicando que, además del efecto negativo de la concentración proteica total sobre el extracto de malta, una mayor proporción de hordeína B y/o una menor proporción de hordeína C sería positivo para este atributo de la malta.

Howard et al. (1996) analizando tres cultivares de cebada sujetos a distintos niveles de disponibilidad de N observaron que la concentración de hordeínas D se asoció negativamente al extracto de malta. En el mismo sentido, cuando se compararon muestras de una misma variedad provenientes de distintas zonas geográficas se observó que el extracto de malta se asociaba negativamente con la concentración de hordeína D expresado como porcentaje del total de hordeínas (Molina Cano et al., 2002). La hordeína D es un componente de la “gel proteína”, una proteína plegada de alto Mr que presenta características coloidales y cuya concentración ha sido asociada negativamente con el extracto de malta (Skerrit y Janes, 1992). Sin embargo, Brennan et al. (1998) no observaron diferencias en el extracto de malta cuando se compararon seis pares de líneas isogénicas que diferían en la presencia o ausencia de hordeína D. Otros trabajos han confirmado la falta de asociación entre la concentración de hordeínas D y el extracto de malta (Molina Cano et al., 2000; Molina Cano et al., 2004). Recientemente, Otero et al. (2021) observaron una asociación negativa entre el extracto de malta y la proporción de hordeína D sólo cuando la concentración de las proteínas totales eran inferiores a 9,6 -10,4%. Por consiguiente, no parecería haber una relación causal entre las altas proporciones de hordeína D y los menores niveles de extracto de malta, al menos cuando la concentración proteica total se encuentra dentro de los niveles buscados en la industria (>10%).

La relación entre la composición de las hordeínas y la ALA ha sido menos estudiada. Molina Cano et al. (2002) observaron que la ALA se asociaba positivamente con la relación entre las hordeínas B/C.

En ensayos realizados bajo hidroponía (que permiten provocar deficiencias severas de nutrientes) se observó que las deficiencias de S provocaban incrementos en

la proporción de hordeínas C (pobres en S) y disminuciones de la proporción de hordeínas B y D (ricas en S) mientras que las deficiencias de N provocaban el efecto contrario (Shewry et al., 1983; Rahman et al., 1983; Qi et al., 2006). Si esto se corrobora en cultivos a campo, las fertilizaciones azufradas deberían producir aumentos de la relación entre las hordeínas B/C y, por lo tanto, aumentos en el extracto de malta mientras que las fertilizaciones nitrogenadas deberían producir el efecto contrario.

1.1.4 Disponibilidad de nutrientes y producción de granos

En la región Pampeana, la histórica falta de reposición de los nutrientes exportados con las cosechas y la erosión condujeron a una disminución en la disponibilidad de nutrientes en los suelos (Díaz de Astarloa y Pengue, 2018). Esta degradación de la fertilidad se aceleró notablemente en los últimos años debido a la marcada intensificación en el uso de los suelos, motivada principalmente por la expansión del cultivo de soja. El deterioro de los suelos es una de las principales causas por la cual la aplicación de fertilizantes se ha difundido como una práctica habitual en los planteos tecnológicos de esta región (Lavado y Taboada, 2009).

En la actualidad, los nutrientes que más frecuentemente limitan la producción de cultivos de granos en la región pampeana son el N, el fósforo (P) y el S. En el caso del N y el P, las deficiencias se conocen desde hace décadas. Estas no son exclusivas de la región pampeana, sino que se encuentran entre las principales limitantes de la producción agrícola en diversas regiones productoras del mundo (Stewart et al., 2005).

Las deficiencias de S se han convertido en otra limitante importante de la producción agrícola en diversas zonas productoras del mundo debido a la disminución de los aportes atmosféricos de este elemento (relacionado a una menor emisión a la

atmósfera desde las industrias contaminantes) y al menor uso de fertilizantes nitrogenados y fosforados que contienen S (Schnug y Haneklaus, 1998). En la región pampeana, recién en la década del 90 se registraron las primeras respuestas a la fertilización con este nutriente en cultivos de granos (Rubio et al., 1996; Martínez y Cordone, 1998). Desde entonces se han observado respuesta a la fertilización azufrada en cultivos de soja, maíz y trigo en esta región (Gutiérrez Boem et al., 2007; Salvagiotti et al., 2017; Carciochi et al., 2019).

En los cultivos de cereales, la fertilización nitrogenada además de incrementar el rendimiento determina aumentos en la concentración proteica de los granos. Dado que en la producción de cebada se requiere que la concentración proteica de los granos se encuentre dentro de un determinado rango (entre el 10 y el 12%), la fertilización nitrogenada puede ser usada para incrementar la concentración proteica en aquellas regiones donde los cultivos tienden a producir granos con bajo concentración proteica como son la región pampeana o Australia Occidental (Paynter y Fettel, 2011; Reussi Calvo et al., 2022).

El fertilizante aplicado en exceso de las necesidades del cultivo puede tener efectos perjudiciales tanto para la economía del agricultor como para el medio ambiente (Black 1993; Vitousek et al., 1997; Römheld, 2012; Beillouin et al 2018; Martínez-Dalmau et al., 2021). Conocer cómo se incrementa el rendimiento del cultivo al aumentar la dosis del fertilizante es una herramienta básica para diseñar programas de fertilización que maximicen el beneficio económico de la fertilización y minimicen los efectos negativos sobre el medio ambiente. En el caso particular de la fertilización nitrogenada en los cultivos de cebada cervecera, también es importante conocer cómo cambian la concentración de proteína y el calibre del grano con la dosis de fertilizante.

La relación entre la dosis de fertilizante y el rendimiento, la concentración proteica de los granos o el calibre de los granos varía de acuerdo con la oferta del nutriente desde el suelo y al potencial de rendimiento del cultivo y, por lo tanto, va a depender de diversos factores edáficos, climáticos y genéticos. El análisis de la relación entre las características del suelo, el clima y el manejo (evaluadas mediante variables fáciles de medir) y las respuestas del rendimiento, la concentración proteica de los granos y el calibre a la fertilización nitrogenada permitiría obtener modelos que requieran un limitado número de variables de fácil obtención y que, por lo tanto, resulten útiles para la recomendación de la fertilización en situaciones de producción, tales como los obtenidos por Reussi Calvo et al. (2022) en cultivos de cebada realizados en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires o los obtenidos por Coyos et al. (2018) o Ruiz et al.(2020) en cultivos de maíz en la región pampeana.

1.1.5. La fertilización nitrogenada durante espigazón en cultivos de cebada cervecera

El efecto de la fertilización nitrogenada depende del momento del ciclo del cultivo en que se aplica el fertilizante. Las fertilizaciones realizadas entre siembra y fin de macollaje incrementan tanto el rendimiento como la concentración proteica (Orcellet et al., 2015). Si las aplicaciones se retrasan hacia encañazón el efecto sobre la concentración proteica es más marcado (Velasco et al., 2012). La fertilización después de la emergencia de la hoja bandera usualmente no afecta al rendimiento y sólo tiene como objetivo el incremento de la concentración proteica de los granos (Gooding y Davies, 1992). En los sistemas productivos de la región pampeana, las fertilizaciones nitrogenadas en espigazón son recomendadas para aumentar la concentración proteica de los granos cuando las condiciones ambientales durante las etapas previas son

particularmente buenas y, por lo tanto, se espera un rendimiento alto. Esta tecnología ha sido moderadamente adoptada por los productores de la región (Ferraris, com. pers.). Se ha logrado predecir durante espigazón cuál será la concentración de proteínas del grano de cebada utilizando sensores remotos (Mendes Bastos et al., 2021), lo que permite decidir la necesidad de fertilización nitrogenada en esta etapa. Sin embargo, no existen modelos de este tipo validados en la región pampeana.

Se sabe poco sobre la relación entre la concentración o la composición de la hordeína y la calidad de la malta cuando la concentración y la composición de la proteína varían debido a la fertilización nitrogenada tardía. Hasta donde conozco, en tres estudios se han analizado los efectos de la fertilización tardía sobre la composición proteica de los granos (o la calidad de la malta) en unos pocos ensayos, sin relacionar estos cambios en el grano con los cambios en la calidad de la malta (Wang et al., 2007; Nanamori et al., 2008; Ajith et al., 2010). Resultaría interesante conocer si los efectos de la fertilización nitrogenada sobre la concentración proteica de los granos, la composición de las hordeínas y la calidad industrial ocasionados por fertilizaciones nitrogenadas en espigazón son similares a los que han sido reportadas en la literatura científica cuando se fertiliza en las primeras etapas del cultivo.

1.2. Objetivos generales y organización de la tesis

Los objetivos generales de esta tesis son:

- 1) Caracterizar y cuantificar los efectos de la fertilización nitrogenada durante las primeras etapas del cultivo y durante espigazón sobre i) el rendimiento y la calidad comercial (concentración proteica y calibre de los granos), y ii) las

proporciones de las distintas fracciones de hordeínas y algunos importantes parámetros de la calidad maltera (extracto, fermentabilidad y friabilidad).

- 2) Caracterizar y cuantificar los efectos de las fertilizaciones azufrada y nitrogenada durante las primeras etapas del cultivo y su interacción sobre i) la determinación del número de granos y ii) la calidad comercial (concentración proteica y calibre de los granos), las proporciones de las distintas fracciones de hordeínas y algunos importantes parámetros de la calidad maltera (extracto, fermentabilidad y friabilidad).

La presente tesis consta de este capítulo introductorio y otros cinco capítulos subsiguientes:

- a) Capítulo 2: En este capítulo se abordó el estudio de los efectos de la fertilización nitrogenada realizada durante las primeras etapas del cultivo sobre el rendimiento, la concentración proteica de los granos y el calibre. El objetivo de este capítulo fue explicar las respuestas del rendimiento, el calibre y la proteína a la fertilización nitrogenada realizada durante las primeras etapas del cultivo en cultivos de cebada en las zonas productoras de este cultivo en la Provincia de Buenos Aires con variables de suelo, clima y manejo del cultivo fáciles de recolectar. Para ello se realizó una red de 25 experimentos a lo largo de las zonas donde se produce cebada en la provincia de Buenos Aires. Los tratamientos consistieron en un testigo y tres niveles de fertilización nitrogenada durante las primeras etapas del cultivo. La hipótesis a poner a prueba fue que la inclusión de variables climáticas, edafológicas y de manejo mejoran la capacidad explicativa de la respuesta del rendimiento,

la concentración proteica y el calibre de los granos a la fertilización nitrogenada respecto de los modelos que sólo incluyen la disponibilidad de N inicial y/o la dosis de fertilización nitrogenada como variables explicativas. En particular se espera que las precipitaciones durante el ciclo del cultivo incrementen las respuestas mientras que el contenido de materia orgánica del suelo las disminuyan

- b) Capítulo 3: En este capítulo se abordó el estudio de los efectos de las fertilizaciones azufrada y nitrogenada durante las primeras etapas del cultivo y su interacción sobre la determinación del número de granos. El objetivo de este capítulo fue determinar si los efectos de la fertilización azufrada, la fertilización nitrogenada y su interacción sobre el número de granos por unidad de superficie pueden explicarse por los cambios en la TCC o el cociente fototérmico durante el periodo crítico. Para ello se realizaron tres experimentos en el Partido de Junín (Pampa Interior). Los tratamientos consistieron en la combinación factorial de dos niveles de fertilización azufrada y tres niveles de fertilización nitrogenada. La hipótesis a poner a prueba es que los efectos del S, el N y su interacción sobre el número de granos por unidad de superficie se asocian positivamente con los cambios en la TCC y en el cociente fototérmico durante el período crítico..
- c) Capítulo 4: Los objetivos de este capítulo fueron determinar los efectos de la fertilización azufrada bajo diferentes niveles de disponibilidad de N sobre i) las cantidades relativas de fracciones de hordeínas en los granos, y ii) el extracto de malta y otros parámetros de calidad de la malta. Se utilizaron los mismos tres experimentos del capítulo 3 al que se le sumaron otros tres

experimentos con los mismos tratamientos en el Partido de General Viamonte (Pampa Interior). Se pondrá a prueba la hipótesis que las deficiencias moderadas de S determinan una disminución en el extracto de malta debido a la disminución en las fracciones B y γ (ricas en este elemento) y en la relación entre las fracciones B/C, mientras que las deficiencias de N lo aumentan debido a la disminución de la concentración proteica (total) de los granos.

- d) Capítulo 5: El objetivo de este capítulo fue analizar los efectos de la fertilización nitrogenada en el momento de espigazón sobre i) la concentración de proteínas y el calibre de los granos, ii) el extracto de malta, la ALA, la dureza de la malta y iii) la composición de hordeínas de los granos y su relación con el extracto de malta. Para ello se realizó una red de 25 experimentos en los mismos sitios experimentales que los descritos en los empleados en el capítulo 2. Los tratamientos consistieron en la combinación factorial de dos niveles de fertilización nitrogenada en espigazón y tres niveles de fertilización nitrogenada durante las primeras etapas del cultivo.
- e) Las hipótesis a poner a prueba son: la fertilización nitrogenada en espigazón (i) produce incrementos en la concentración proteica y disminuciones en el calibre de los granos siendo los cambios mayores cuanto menor sea la disponibilidad de N en las primeras etapas del cultivo, (ii) no produce cambios en el rendimiento debido a que el período crítico de determinación del número de granos ya ha terminado cuando se fertiliza; (iii) produce disminuciones en el extracto y en la ALA e incrementos en la dureza; (iv) las

disminuciones en el extracto están determinadas por una mayor concentración proteica de los granos y por una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C

**CAPÍTULO 2: CONTROL AMBIENTAL DE LA RESPUESTA DE LA CEBADA
CERVECERA A LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN LAS PRIMERAS
ETAPAS DEL CULTIVO**

2.1. Introducción

La industria maltera requiere que la cebada que se va a utilizar como materia prima tenga una concentración proteica intermedia (en muchos países se exige entre el 10 y el 12%) y un calibre (evaluado como el porcentaje que es retenido en una zaranda de calibrada con orificios de 2,5mm de ancho) de más del 85-90%. Tanto el rendimiento, la concentración de proteínas y el calibre pueden verse afectados por diversos factores ambientales: estrés térmico, sequía o deficiencias de nutrientes durante el ciclo del cultivo (Fathi et al., 1997; Passarella et al., 2008; O'Donovan et al., 2011; O'Donovan et al., 2015).

Al igual que en otras regiones agrícolas del mundo, el N es el nutriente que más frecuentemente afecta la producción de los cultivos de la región pampeana (Stewart et al., 2005; Lavado y Taboada 2009). Como consecuencia de la deficiencia de este nutriente, el uso de fertilizantes ha aumentado sustancialmente durante las tres últimas décadas (Lavado y Taboada 2009). Un efecto común de la fertilización nitrogenada en los cultivos de cebada cervecera es el aumento de la concentración proteica del grano y la disminución del calibre (O'Donovan et al., 2011, 2015; Sainju et al., 2013).

En los cultivos de cebada (al igual que en muchos cultivos) resulta conveniente aplicar una dosis determinada de fertilizante nitrogenado: una dosis menor resultará en rendimientos y concentraciones proteicas menores a los buscados y, por lo tanto, en menores beneficios económicos para el productor, mientras que una dosis excesiva incrementará innecesariamente los costos (disminuyendo el beneficio económico) y aumentará marcadamente el riesgo de provocar daños al medio ambiente (Black 1993; Vitousek et al., 1997). Conocer como varía el rendimiento del cultivo en función de la

dosis de N aplicada es una herramienta básica para estimar la dosis óptima. En el caso de la cebada cervecera, también es importante saber cómo cambian la concentración de proteína y el tamaño del grano con la disponibilidad de N. Las funciones de respuesta de rendimiento más sencillas para la cebada solo incluyen la dosis de fertilizante como variable independiente (por ejemplo, O'Donovan et al., 2011; Sainju et al., 2013). Sin embargo, las funciones de respuesta más comunes también incluyen la disponibilidad de N del suelo a la siembra. En la región pampeana y otras regiones agrícolas del mundo, las funciones de respuesta del rendimiento para el trigo y otros cultivos de granos incluyen la cantidad de N como nitrato en los 60 cm superiores del suelo (Grant et al., 1991; Barbieri et al., 2009; Bell et al., 2013; Reussi Calvo et al., 2013). Estos modelos que sólo incluyen la disponibilidad de N del suelo en el momento de la siembra son fáciles de usar, pero no tienen en cuenta la mineralización del N de la materia orgánica que podría ser una fuente importante de N para un cultivo (Campbell et al., 2008). En algunos casos, la inclusión de variables relacionadas con la mineralización del N orgánico proporcionó predicciones más fiables de la respuesta del rendimiento del cultivo a la fertilización nitrogenada (Reussi Calvo et al., 2013). Además, la respuesta del rendimiento a la aplicación de N depende de las necesidades del cultivo, que están asociadas al potencial de rendimiento del agrosistema considerado (Bell et al., 2013). Por lo tanto, cualquier factor climático, del suelo y del sistema de cultivo que afecte al rendimiento del cultivo o a la mineralización de la materia orgánica puede afectar a la respuesta del cultivo a la fertilización nitrogenada. La inclusión de la cantidad de lluvia, previa o durante el ciclo del cultivo en un modelo permitió mejorar la explicación de la variación del rendimiento del trigo en la región pampeana y de la cebada en las Grandes Llanuras canadienses (Bole y Pittman 1980; Reussi Calvo et al., 2013).

La relación de la disponibilidad de N con la concentración de proteína o el tamaño del grano suele ser más difíciles de explicar que la relación con el rendimiento. En algunos casos, la variación de la proteína y el tamaño del grano pueden explicarse sólo por la dosis de N aplicada o la cantidad de nitrato del suelo a la siembra más el N aplicado (por ejemplo, O'Donovan et al., 2011; Sainju et al., 2013). Como la concentración de proteína en el grano puede verse afectada por la sequía previa o posterior a la antesis, algunos modelos que explican su variación incluyen variables que dan cuenta de la disponibilidad de agua en el suelo. Dalal et al. (1997) observaron que los cambios en la concentración de proteína del grano de trigo y cebada en ambientes subtropicales de Australia estaban relacionados con la relación entre el contenido de agua del suelo hasta 120 cm de profundidad a la siembra y la disponibilidad de N (es decir, el nitrato del suelo hasta 120 cm de profundidad a la siembra más el N aplicado).

El objetivo de este trabajo fue explicar las respuestas del rendimiento, el calibre y la concentración proteica de los granos a la fertilización nitrogenada en cultivos de cebada en las zonas productoras de este cereal de la Provincia de Buenos Aires utilizando variables de suelo, clima y manejo del cultivo fáciles de obtener. La hipótesis a poner a prueba fue que la respuesta a la fertilización nitrogenada (tanto en términos de rendimiento como de proteínas o calibre) está modulada por el ambiente: aquellos factores que incrementan el rendimiento aumentan la respuesta, aquellos factores que incrementen la disponibilidad de N para el cultivo la disminuyen. La inclusión de variables climáticas, edafológicas y de manejo mejoran la capacidad explicativa de la respuesta del rendimiento, la concentración proteica y el calibre de los granos a la fertilización nitrogenada respecto de los modelos que sólo incluyen la disponibilidad de N inicial y/o la dosis de fertilización nitrogenada como variables explicativas. En

particular se espera que las precipitaciones durante el ciclo del cultivo incrementen las respuestas mientras que el contenido de materia orgánica del suelo las disminuyan.

2.2. Materiales y métodos

Se establecieron 25 experimentos distribuidos en las principales zonas productoras de cebada de la provincia de Buenos Aires a lo largo de cuatro años (2005 - 2008). Los lotes fueron seleccionados para representar las dos principales zonas de producción de cebada en Argentina (norte y sur de la provincia de Buenos Aires). En cada experimento se evaluaron los efectos de la fertilización nitrogenada aplicada en las primeras etapas del cultivo. El Cuadro 2-1 muestra información resumida sobre la ubicación, las prácticas de manejo y el suelo para cada sitio experimental.

Los experimentos se establecieron en campos de los agricultores, y las prácticas de manejo fueron las usadas normalmente en cada establecimiento. En los experimentos establecidos en el norte de la provincia de Buenos Aires (sitios 11 a 25) el cultivo previo fue siempre soja, mientras que en el sur los antecesores fueron diversos cultivos de granos. Catorce experimentos se realizaron con siembra directa y el resto con labranza convencional. La fecha de siembra varió entre el 19 de junio y el 20 de julio. Para evitar la deficiencia de P, se aplicaron 20 kg ha⁻¹ de P como superfosfato triple en cada sitio experimental.

Se cultivó cebada cervecera de dos hileras (*Hordeum vulgare* L. convar. *distichon* L.) del cultivar Scarlett. Se trata de un cultivar de excelente calidad industrial por lo que fue considerada una variedad estándar por el European Brewery Convention y fue aceptada ampliamente por la industria maltera del mundo en la primera década de este siglo (Molina Cano et al., 2002; Silva et al., 2008). Fue la variedad más cultivada

en nuestro país durante muchos años: entre los años 2007 y 2013 ocupó más de las dos terceras partes de la superficie cultivada con cebada en Argentina (Cattaneo, 2013). Comparado con las otras variedades presentes en el mercado al realizar los experimentos, Scarlett se caracterizaba por sus altos rendimientos y una tendencia a los bajos contenidos proteicos en el grano.

En todos los experimentos se utilizaron diseños de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones, excepto en los sitios 14 a 19, donde se utilizaron cuatro repeticiones. Las parcelas tenían una longitud de 10 a 20 m y un ancho de 2 a 4 m en todos los sitios.

Los tratamientos consistieron en cuatro dosis de fertilización nitrogenada (excepto en los sitios 4, 6, 8 y 10, donde sólo se utilizaron tres dosis) (Cuadro 2-1). Siguiendo una práctica común en Argentina, las dosis de N se establecieron de manera tal que la suma de N como nitrato en los 60 cm superiores del suelo más el N aplicado en el fertilizante alcance un determinado valor (método conocido como el objetivo de fertilización). El N se aplicó como urea al voleo, al momento de la siembra en los experimentos del norte de Buenos Aires (sitios 11 a 25) y al macollaje en los experimentos del sur de Buenos Aires (sitios 1 a 10) siguiendo las prácticas de manejo habituales en cada zona.

Los datos de precipitación, temperatura y radiación se obtuvieron de las estaciones meteorológicas más cercanas. La cantidad de precipitaciones de junio a noviembre fue de 154 a 447 mm, lo que sugiere que se exploró un amplio rango de disponibilidad hídrica (Cuadro 2-1). Para analizar las relaciones entre el rendimiento, la proteína y el calibre de los granos y la información climática, se sumaron las

precipitaciones y se promediaron la temperatura y la radiación para diferentes periodos de tiempo: a) durante el ciclo completo (entre la siembra y la madurez fisiológica), b) durante el periodo crítico en el que se determina el número de granos (de 40 a 10 días antes de espigazón) (Arisnabarreta y Miralles 2008), y c) durante el periodo de llenado de los granos (desde espigazón hasta la madurez fisiológica).

En cada experimento, se tomaron muestras de suelo antes de la siembra a las profundidades de 0 a 20, 20 a 40 y 40 a 60 cm. La concentración de carbono y el pH se determinaron de 0 a 20 cm de profundidad, mientras que el nitrato se determinó de 0 a 60 cm de profundidad. El contenido de materia orgánica se estimó dividiendo la concentración de carbono por un factor de 0,58 (Cuadro 2-1).

Cuadro 2-1: Información de los sitios y dosis de N aplicadas (PP: precipitaciones, t: típico; e.: éntico, SD: siembra directa, MO: materia orgánica)

Sitio	Año	Localidad	Labranza	Años de cultivo	Cultivo previo	PP (mm)	Tipo de suelo	pH 0-20 cm	MO 0-20 cm (%)	N-NO ₃ ⁻ 0-60 cm (kg ha ⁻¹)	Dosis de N (kg ha ⁻¹)			
											N ₀	N ₁	N ₂	N ₃
1	2005	S.F. Belloq	Disco	>20	Girasol	280	Hapludoll t.	6,5	4,5	28	0	30	60	90
2	2006	S.F. Belloq	Disco	>20	Soja	294	Hapludoll t.	6,2	4,9	37	0	24	54	84
3	2005	M.Cascallares	SD	>10	Trigo	257	Argiudoll t.	6,5	2,3	39	0	42	72	102
4	2006	M.Cascallares	SD	>10	Trigo	328	Hapludoll t.	6,4	3,1	55	0	12	42	72
5	2005	Puan	Disco	6	Avena	211	Haplustoll t.	6,8	2,8	60	0	30	60	90
6	2006	Puan	Disco	5	Girasol	154	Haplustoll t.	6,5	2,3	60	0	31	61	91
7	2005	Cnel. Suarez	Disco	>10	Trigo	211	Argiudoll t.	6,2	4,1	70	0	38	68	98
8	2006	Cnel. Suarez	SD	12	Trigo	297	Argiudoll t.	6,3	5,1	90	0	48	78	108
9	2007	Cnel. Suarez	Disco	10	Trigo	273	Argiudoll t.	6,0	3,3	48	0	29	59	-
10	2007	Cnel. Suarez	Disco	10	Trigo	273	Argiudoll t.	6,5	4,1	24	0	8	38	68
11	2005	Dennehy	Disco	7	Soja	382	Hapludoll e.	6,0	2,2	14	0	36	68	98
12	2006	Anderson	SD	5	Soja	435	Hapludoll e.	6,1	2,7	62	0	17	47	77
13	2006	Anderson	SD	5	Soja	435	Hapludoll e.	6,1	2,7	62	0	12	42	72
14	2005	Baigorrita	Disco	>10	Soja	274	Hapludoll t.	5,8	2,4	71	0	29	59	-
15	2006	Baigorrita	Disco	>10	Soja	423	Hapludoll t.	5,8	2,4	45	0	25	55	85
16	2008	Baigorrita	Disco	>10	Soja	339	Hapludoll t.	5,4	2,5	42	0	21	51	81
17	2005	Junín	SD	>20	Soja	335	Hapludoll e.	5,5	1,3	46	0	22	52	82
18	2006	Junín	SD	>10	Soja	422	Hapludoll e.	5,4	2,4	49	0	21	51	81
19	2008	Junín	SD	>20	Soja	350	Hapludoll e.	5,2	2,1	34	0	24	54	84

Cuadro 2-1: (continuación)

Sitio	Año	Localidad	Labranza	Años de cultivo	Cultivo previo	PP (mm)	Tipo de suelo	pH 0-20 cm	MO 0-20 cm (%)	N-NO ₃ ⁻ 0-60 cm (kg ha ⁻¹)	Dosis de N (kg ha ⁻¹)			
											N ₀	N ₁	N ₂	N ₃
20	2005	Arribeños	SD	>20	Soja	324	Hapludoll t.	5,5	3,6	62	0	40	60	80
21	2006	Arribeños	SD	>10	Soja	447	Hapludoll t.	5,6	2,8	80	0	60	80	100
22	2007	Arribeños	SD	>10	Soja	215	Hapludoll t.	5,4	2,0	61	0	9	39	69
23	2008	Arribeños	SD	>10	Soja	307	Hapludoll t.	6,1	2,7	39	0	30	60	90
24	2005	La Trinidad	SD	>20	Soja	297	Argiudoll t.	5,8	2,4	88	0	25	55	85
25	2006	La Trinidad	SD	>10	Soja	336	Argiudoll t.	5,6	2,7	61	0	21	51	81

En la madurez del cultivo, se cosechó una muestra de al menos un metro cuadrado de cada parcela y se trilló a mano. Las muestras de grano se secaron en estufa a 65 °C para determinar el rendimiento, el calibre y la concentración de proteínas. El rendimiento se ajustó a un contenido de humedad estándar del 12%. El calibre del grano se determinó por fraccionamiento de tamaño con una calibradora (Sortimat, Pfeuffer GmbH) con tres tamices ranurados de diferentes anchos (2,8, 2,5 y 2,2 mm). Cada muestra de grano se separó en cuatro fracciones de calibre: >2,8 mm (fracción 1), 2,8-2,5 mm (fracción 2), 2,5-2,2 mm (fracción 3) y <2,2 mm (fracción 4). El calibre de los granos (porcentaje > 2,5 mm) se calculó como el porcentaje en peso de los granos gruesos (fracciones 1 más 2) dentro de cada muestra. La concentración de N se determinó mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (Foss 6500), calibrada con el método Kjeldahl. La concentración de proteínas se calculó multiplicando la concentración de N por un factor de 6,25. En 15 sitios experimentales se determinó también el número de granos y el peso individual. El peso individual de los granos se determinó contando y pesando tres submuestras de 100 granos tomadas de cada parcela en la cosecha. El número de granos por unidad de superficie se calculó dividiendo el rendimiento de los granos por el peso individual de los mismos. La respuesta de rendimiento, proteína y calibre a la fertilización nitrogenada se calculó como la diferencia entre cada tratamiento fertilizado con N (N1, N2 o N3) y N0 en cada sitio experimental.

Los efectos del tratamiento (dosis de N) se estimaron con un modelo lineal mixto utilizando el paquete lme4 en R (Bates et al., 2015; R Core Team 2019). Los mejores estimadores lineales insesgados (BLUEs) se estimaron por máxima verosimilitud restringida (REML). El análisis de la varianza y las pruebas de hipótesis

se realizaron mediante los paquetes lmerTest y lsmeans. Los efectos del tratamiento, el experimento y su interacción se consideraron como efectos fijos para poder analizar el efecto de la fertilización en cada sitio. La utilización de un modelo lineal mixto permitió que la dosis de fertilizante sea considerada un efecto cuantitativo en el análisis de varianza. Los bloques dentro de cada experimento se consideraron efectos aleatorios. Se utilizó un análisis de regresión múltiple para estimar el rendimiento, la proteína y el calibre en las parcelas de control y la respuesta del rendimiento, la proteína y el calibre a la fertilización nitrogenada en función de las variables de manejo, suelo y clima. La colinealidad entre las variables independientes se evaluó utilizando los factores de inflación de la varianza (VIF, por sus siglas en inglés). Las variables que resultaron significativas al nivel 0,05 y que tenían valores del VIF inferiores a 2 se dejaron en el modelo final.

2.3. Resultados

2.3.1. Rendimiento

La amplia distribución geográfica de los sitios experimentales y la variación de las condiciones climáticas resultaron en una gran variación del rendimiento en grano: desde 1,5 hasta casi 7 t ha⁻¹. Se observaron respuestas significativas a la fertilización nitrogenada en 9 de los 25 ensayos (Cuadros 2-2 y 2-3). En los sitios que respondieron a la fertilización, el rendimiento aumentó del 24 al 45%, lo que representó incrementos de más de una tonelada en seis ensayos. Los ambientes con bajo potencial de rendimiento (evaluados por el rendimiento máximo alcanzado en cada sitio) no mostraron respuesta a la fertilización nitrogenada. Las mayores respuestas a la fertilización nitrogenada se

observaron siempre en los ambientes de alto rendimiento, aunque también se observaron algunas respuestas bajas en estos ambientes.

Cuadro 2-2: Valores de p del análisis de la varianza para los efectos de la dosis de N y el ambiente (lugar x año), y su interacción sobre las variables de cebada cervecera. Los efectos significativos ($p < 0,05$) aparecen en negrita

Efectos	Rendimiento	Número de granos	Peso individual del grano	Calibre	Concentración proteica del grano
Dosis de N (N)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Ambiente (A)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
N x A	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

El rendimiento en el tratamiento control y la respuesta del rendimiento a la fertilización nitrogenada no estuvieron relacionados con la concentración de nitrato del suelo al momento de la siembra. La respuesta del rendimiento estuvo muy débilmente relacionada con la dosis de N ($p = 0,05$; $R^2 = 0,054$). Cuando se tuvieron en cuenta otras variables ambientales (pH y materia orgánica en la capa superior del suelo, precipitaciones, etc.), se estableció que rendimiento del tratamiento control se relacionó significativa y positivamente con las precipitaciones durante todo el ciclo del cultivo y negativamente con la temperatura media durante el periodo crítico en el que se determina el número de granos (Cuadro 2-4). Por otro lado, la respuesta del rendimiento se relacionó negativamente con la materia orgánica del suelo y la temperatura media durante el ciclo completo del cultivo, y positivamente con el producto de la dosis de N por la lluvia (ciclo completo). La respuesta del rendimiento fue 480 kg ha^{-1} mayor sobre Argiudoles que en otros suelos.

Cuadro 2-3: Rendimiento, calibre y concentración proteica del grano en función de la fertilización nitrogenada (N) en cada sitio. Cada valor es la media de 3 o 4 bloques según el experimento. El valor p indica la significancia estadística el efecto de N en ese sitio.

Sitio	Rendimiento (t ha ⁻¹)					Calibre (%)					Concentración proteica del grano (%)				
	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	p	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	p	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	p
1	2,711	3,182	3,205	2,868	0,624	99,0	98,2	96,8	95,8	0,330	9,3	10,6	11,9	12,4	<0,001
2	5,285	5,409	4,812	5,047	0,293	82,0	80,1	68,3	65,5	<0,001	8,4	9,6	10,9	12,0	<0,001
3	5,272	6,433	6,720	6,916	<0,001	96,0	97,0	95,6	93,7	0,454	7,0	7,3	8,4	9,1	<0,001
4	4,126	4,806	3,971	-	0,603	86,0	83,0	70,7	-	<0,001	9,5	11,0	12,1	-	<0,001
5	1,614	1,785	1,480	1,868	0,725	64,7	62,9	55,3	65,7	0,691	11,6	12,4	14,5	13,8	<0,001
6	1,818	1,951	2,171	-	0,389	80,7	79,3	82,4	-	0,637	10,6	13,0	14,5	-	<0,001
7	4,166	5,240	5,412	5,971	<0,001	97,8	97,9	98,4	98,5	0,823	7,6	8,4	8,8	9,7	<0,001
8	3,808	4,676	5,086	-	0,002	95,1	91,8	88,9	-	0,083	6,8	7,4	8,3	-	0,016
9	3,048	3,715	3,768	3,841	0,041	94,1	93,2	91,6	90,8	0,367	7,1	8,0	8,4	8,8	0,011
10	3,710	4,558	4,611	4,787	0,005	91,6	76,4	77,7	84,6	0,003	7,5	9,7	10,2	10,4	<0,001
11	5,102	6,241	6,255	6,628	<0,001	97,0	95,8	92,5	92,1	0,108	8,1	9,2	10,3	11,1	<0,001
12	5,109	5,374	5,903	5,643	0,135	94,6	95,6	93,3	92,2	0,344	8,5	9,0	9,5	9,7	0,049
13	5,157	5,937	5,714	5,943	0,091	94,8	94,8	95,8	94,9	0,886	8,5	9,2	9,5	9,9	0,018
14	6,041	5,676	6,703	-	0,061	91,6	91,1	87,5	-	0,179	5,7	6,5	7,4	-	0,002
15	5,093	4,888	5,315	5,334	0,266	88,8	87,9	82,4	75,4	<0,001	8,2	8,5	8,4	8,2	0,926
16	5,384	5,381	5,340	5,680	0,428	88,2	89,3	90,0	89,1	0,745	7,1	7,4	8,8	8,8	<0,001
17	2,857	3,519	3,294	3,566	0,104	88,9	87,2	82,2	76,6	<0,001	7,3	7,1	8,9	9,7	<0,001
18	3,479	4,027	3,379	4,360	0,081	95,0	93,8	90,7	89,8	0,049	7,3	8,1	8,4	9,0	0,003
19	1,636	1,690	1,764	1,915	0,412	71,7	67,8	65,1	65,3	0,028	8,2	8,4	10,0	9,3	0,002
20	5,917	5,316	5,999	5,203	0,247	92,3	93,8	93,6	90,6	0,667	8,9	8,4	8,4	9,2	0,617
21	2,876	3,343	4,183	3,690	0,015	91,4	85,9	87,4	91,5	0,748	11,0	11,4	11,0	11,4	0,617
22	2,497	2,751	2,979	2,839	0,405	-	-	-	-	-	9,5	9,7	10,5	11,1	0,003

Cuadro 2-3: Continuación

Sitio	Rendimiento (t ha ⁻¹)					Calibre (%)					Concentración proteica del grano (%)				
	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	<i>p</i>	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	<i>p</i>	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	<i>p</i>
23	1,209	1,621	1,509	1,473	0,597	57,2	57,4	54,7	50,5	0,042	12,9	14,7	14,8	15,4	<0,001
24	3,958	4,374	4,783	4,910	0,017	88,7	87,7	90,4	90,0	0,524	9,3	8,5	8,9	9,0	0,963
25	3,147	3,321	3,645	4,108	0,012	97,2	96,8	95,9	94,1	0,343	9,7	9,8	10,6	10,9	0,034

Cuadro 2-4: Modelos explicativos obtenidos utilizando características de suelo y clima como variables independientes

Variable dependiente	Modelo	R ²	R ² ajustado	RSME	p
Rendimiento en el tratamiento control (t ha ⁻¹)	$y = 11,278 + 0,00908 \text{ PPcc} - 0,57879 \text{ T}_{\text{PC}}$	0,289	0,224	1596696	<0,02
Respuesta del rendimiento al N (t ha ⁻¹)	$y = 3,35126 + 0,48043 \text{ ARG} - 0,2093 \text{ MO} - 0,1791 \text{ T}_{\text{CC}} + 0,00001418 \text{ DN} \times \text{PPcc}$	0,392	0,355	177541	<0,01
Calibre en el tratamiento control (%)	$y = -0,07255 \text{ T}_{\text{LG}}^2$	0,441	0,415	65,499	<0,01
Respuesta de la concentración proteica del grano al N (%)	$y = - 8,20828 + 0,01735 \text{ DN} - 0,01713 \text{ NS} + 0,2658 \text{ LAT}$	0,581	0,562	0,53095	<0,01

PPcc es la precipitación (mm) durante el ciclo completo del cultivo; T_{PC} es la temperatura media (°C) durante el periodo crítico para la determinación del número de granos (40 a 10 días previos a espigazón); ARG es 1 cuando el suelo es Argiudoll y 0 cuando no lo es; MO es la concentración de materia orgánica en los 20 cm superiores del suelo (%); T_{CC} es la temperatura media (°C) durante el ciclo completo del cultivo; DN es la dosis de fertilizante nitrogenado (kgN ha⁻¹); T_{LG} es la temperatura media (°C) durante el período de llenado del grano; NS es el N-nitrato en los 60 cm superiores del suelo (kg N ha⁻¹); LAT es latitud (°).

2.3.2. Componentes del rendimiento

El número de granos por unidad de superficie varió mucho más que el peso individual del grano. El valor más alto del número de granos cuadruplicó el valor más bajo, mientras que en el caso del peso individual de los granos el valor más alto fue 1,38 veces el más bajo. De los 15 sitios experimentales en los que se midieron los componentes del rendimiento, la fertilización nitrogenada aumentó significativamente el número de granos en nueve sitios (Cuadros 2-2 y 2-5).

Cuadro 2-5: Número de granos por unidad de superficie y peso individual de los granos en función de la fertilización nitrogenada

Sitio	Número de granos por unidad de superficie (m ⁻²)					Peso individual del grano (mg)				
	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	<i>p</i>	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	<i>p</i>
5	4690	5252	4356	5453	0,682	34,4	34,0	34,1	34,3	0,921
6	5362	5818	6468		0,304	37,9	37,7	37,6		0,797
7	10108	12441	13103	14284	<0,001	42,1	42,1	41,3	41,8	0,664
8	10102	13074	15062		<0,001	42,3	40,1	37,8		<0,001
11	11645	15651	16405	17118	<0,001	43,3	40,1	38,1	38,7	<0,001
12	12249	12657	15266	14037	0,027	41,7	42,7	38,7	40,3	0,023
13	12484	14395	13700	14402	0,127	41,3	41,3	41,7	41,3	0,922
14	16484	15849	19235		0,003	36,8	35,8	34,9		0,072
15	12784	12384	14052	14435	0,020	40,0	39,6	37,9	37,0	0,001
16	13794	13822	13513	14565	0,4730	39,2	39,0	39,4	39,0	0,996
17	7762	9918	9319	10384	0,018	36,9	35,5	35,6	34,4	0,025
18	8603	10051	8495	11170	0,040	40,5	40,1	39,8	39,1	0,158
19	5068	5354	5477	5863	0,395	32,3	31,5	31,7	32,6	0,661
20	14670	13910	15364	13955	0,828	40,3	38,3	39,0	37,3	0,022
24	10325	11028	12469	13147	0,004	38,3	39,7	38,3	37,3	0,148

El peso individual del grano varió entre 31 y 43 mg. La fertilización nitrogenada disminuyó significativamente el peso individual del grano en seis sitios (Cuadros 2-2 y 2-5). Considerando todos los tratamientos y sitios en los que se evaluaron los componentes del rendimiento, éste se asoció positiva y significativamente tanto con el número de granos como con el peso individual de los mismos, aunque la asociación con el número de granos fue mucho más estrecha que con el peso individual de los mismos

(ecuaciones 2-1 y 2-2). La asociación con el peso individual de los granos fue curvilínea, indicando que la variación del peso individual de los granos fue mucho menor con rendimientos altos de granos que con rendimientos bajos.

$$\text{REND} = 4,059 \cdot 10^{-4} \text{NG} - 0,255 \quad (R^2=0,96, p<0,01, n=57) \quad [\text{ecuación 2-1}]$$

$$\text{REND} = -0,04081 \text{PIG}^2 + 3,3859 \text{PIG} - 65,045 \quad (R^2=0,45; p<0,01; n=57) \quad [\text{ecuación 2-2}]$$

donde REND es el rendimiento (t ha^{-1}), NG es el número de granos (granos m^{-2}), y PIG es el peso individual del grano (mg).

2.3.3. Calibre y fracciones de tamaño

El calibre (porcentaje $> 2,5 \text{ mm}$) varió ampliamente entre los sitios y los tratamientos, con valores de 50 a 99% (Cuadro 2-3). La fertilización nitrogenada disminuyó significativamente el calibre en 10 sitios. El calibre en los tratamientos control se relacionó negativamente con la temperatura media durante el periodo de llenado del grano (Cuadro 2-4). La respuesta del calibre a la fertilización nitrogenada no se relacionó con ninguna variable ambiental medida en este estudio.

El calibre se asoció positivamente con el peso individual del grano (Fig. 2-1A). Esta relación fue curvilínea indicando que, cuando el peso individual del grano fue relativamente alto (por ejemplo, mayor a 38 mg), las variaciones del peso individual del grano se asociaron con pequeñas variaciones del calibre, mientras que cuando el peso individual del grano fue bajo, las variaciones del peso individual del grano se asociaron con mayores variaciones del calibre. La variación del calibre se asoció positivamente con la variación de la fracción 1 y negativamente con la fracción 2 (Figs. 2-1b y 2-1c).

En consecuencia, cuando la fracción de calibre 1 aumentó, la fracción 2 disminuyó (Ecuación 2-3).

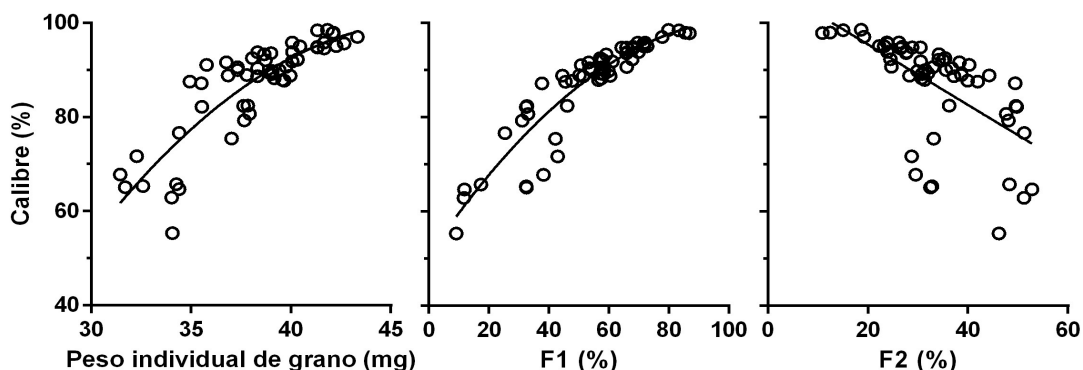


Figura 2-1: Relación entre el calibre (porcentaje $>2,5$ mm) y el peso individual del grano, la fracción granulométrica 1 (porcentaje $>2,8$ mm) y la fracción granulométrica 2 (porcentaje entre 2,5 y 2,8 mm) en los 15 sitios donde se determinó el peso individual del grano. Cada símbolo representa la media de un tratamiento en un sitio experimental. La línea representa la función ajustada. Todas las funciones ajustadas son significativas ($p < 0,01$)

El calibre varió principalmente debido a las diferencias entre los sitios experimentales y, en menor medida, debido a los tratamientos dentro de cada sitio. Para analizar la variación del calibre debida a los tratamientos independientemente de la variación debida a las diferencias entre ambientes, se calculó el calibre relativo dividiendo el calibre de cada tratamiento en un sitio determinado por el calibre medio de todos los tratamientos de ese sitio. Del mismo modo, la fracción 1 y la fracción 2 relativas se calcularon dividiendo el valor de cada tratamiento en un sitio determinado por el valor medio de ese sitio. El calibre relativo mostró una asociación estrecha y positiva con la fracción relativa 1 y una asociación débil y negativa con la fracción relativa 2 (ecuaciones 2-4 y 2-5). Estos resultados sugieren que la variación del calibre debida a los tratamientos de fertilización fue determinada por la variación de la fracción de calibre 1.

$$F2 = -0,0064 F12 + 0,1585 F1 + 45,460 (R^2=0,83; p<0,001; n=92) \text{ [ecuación 2-3]}$$

$$GSrel = 0,2823 F1rel - 0,7177 (R^2 = 0,78; p<0,001; n = 92) \text{ [ecuación 2-4]}$$

$$GSrel = -0,0896 F2rel + 1,0896 (R^2 = 0,07; p=0,009; n = 92) \text{ [ecuación 2-5]}$$

Donde F2 es la fracción de calibre 2 (% entre 2,8-2,5 mm), F1 es la fracción de calibre 1 (% > 2,8 mm), GSrel es el calibre relativo, F1rel es la fracción de calibre relativo 1, y F2rel es la fracción de calibre relativo 2.

2,3,4. Concentración de proteína en el grano

En la mayoría de los sitios experimentales, la concentración proteica del grano fue baja, con un mínimo de 61 % (Cuadro 2-3). Sólo en seis sitios, la concentración proteica del grano en al menos un tratamiento fue superior a 12,5 %, lo que es considerado excesivo por los malteros en Argentina. Cabe destacar que la limitación genética para la concentración de proteína en grano no fue muy baja, ya que en un sitio se observó una concentración de proteína en grano superior a 16,5 %. La fertilización nitrogenada aumentó significativamente la concentración de proteína en grano en 18 de los 25 experimentos. Cabe destacar que la respuesta de la concentración de proteína del grano a la fertilización nitrogenada fue más frecuente que la respuesta del rendimiento. El incremento medio de la concentración de proteína en el grano fue de 2,02 % (calculado como la diferencia en la concentración de proteína en el grano entre N0 y el valor más alto de N1, N2 o N3). En promedio, por cada kilogramo de N aplicado la concentración de proteína del grano aumentó en 0,028 % cuando se compararon N1 y N0 y en 0,030 % cuando se compararon N1 y N2.

La concentración de proteína del grano en los tratamientos control no se relacionó con ninguna variable ambiental medida en este trabajo. Por otro lado, la respuesta de la concentración de proteína en grano a la fertilización nitrogenada estuvo relacionada negativamente con el N-nitrato en los 60 cm superiores del suelo en el momento de la siembra y positivamente con la dosis de N (Cuadro 2-4). Es interesante que los valores absolutos de los parámetros de ambas variables (dosis de N y N-nitrato) en el modelo fueron similares ($p=0,97$). La respuesta de la concentración de proteína del grano se relacionó positivamente con la latitud: la concentración de proteína del grano aumentó un 0,22% por cada grado de latitud. La latitud probablemente reflejaba otra variable ambiental directamente relacionada con la concentración de proteína del grano (como la temperatura o la radiación), pero no se pudo sustituir por otra variable en el modelo.

La concentración de proteína en el grano estuvo relacionada negativamente con el rendimiento (Fig. 2-2). Esta relación no fue lineal: cuando el rendimiento aumentó de 2 a 4 t ha⁻¹ la concentración de proteína del grano disminuyó en 2,52 %, mientras que los aumentos de rendimiento por encima de 4 t ha⁻¹ prácticamente no afectaron a la concentración de proteína del grano. La disminución de la concentración de proteína en el grano como consecuencia del aumento del rendimiento fue menor que la esperada para un efecto de dilución puro. La concentración de proteína en el grano disminuyó junto con el aumento de la cantidad de N en el grano por unidad de superficie (en la Fig. 2-2, la función ajustada pasa por las líneas de igual N por unidad de superficie).

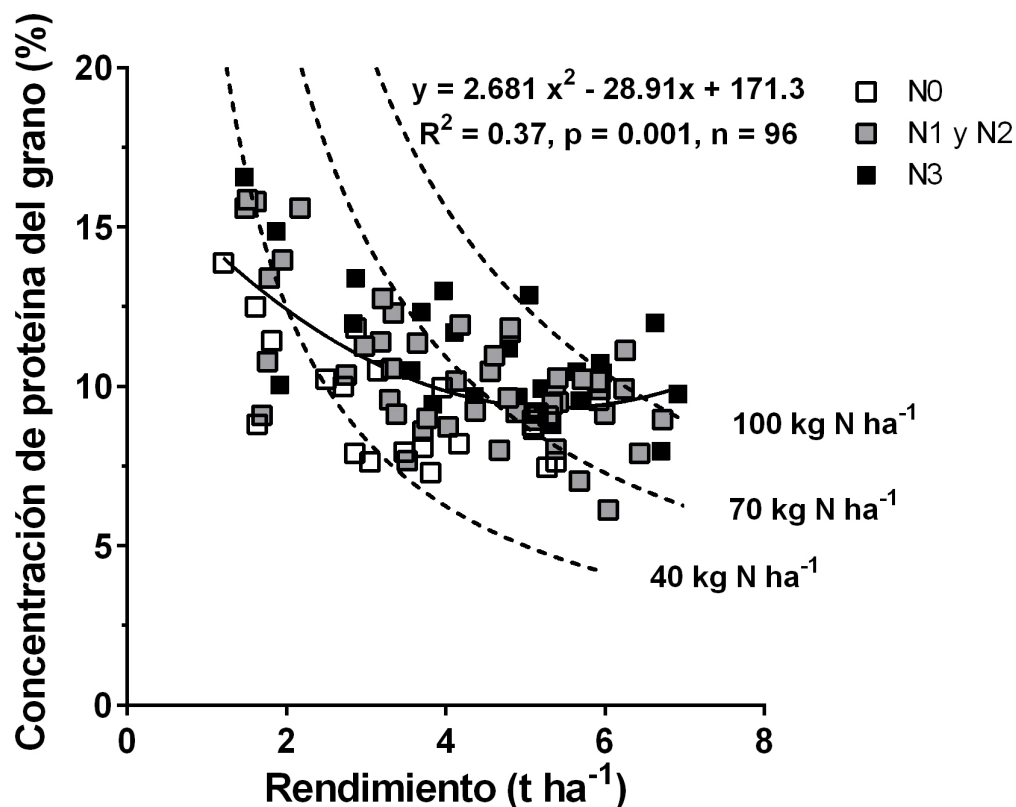


Figura 2-2: Relación entre la concentración de proteína del grano y el rendimiento en los 25 sitios experimentales. Cada cuadrado representa la media de un tratamiento en un sitio experimental. La línea continua representa la función ajustada mediante regresión. Las líneas punteadas unen puntos en los cuales el N en grano por unidad de superficie equivale a 40, 70 y 100 kgN ha⁻¹.

La relación concentración de proteína en grano vs. rendimiento, en este estudio, incluye dos fuentes de variación: i) cambios en la disponibilidad de N dentro de cada sitio experimental, y ii) diferencias en las condiciones climáticas, edáficas, bióticas y de manejo del cultivo entre los experimentos. Los cambios en la concentración de proteína del grano dentro de cada experimento no se asociaron con las variaciones en el rendimiento (Fig. 2-3A). Sin embargo, cuando se consideraron las variaciones entre los sitios experimentales, los cambios en la concentración de proteína del grano se asociaron negativamente con el rendimiento (Fig. 2-3B).

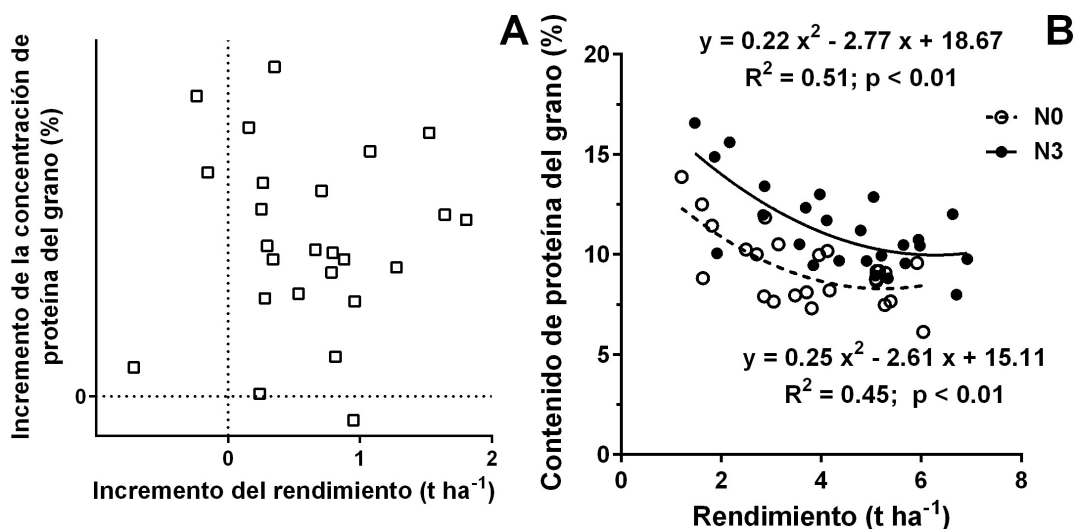


Figura 2-3: A) Relación entre el incremento de la concentración de proteína del grano y el incremento del rendimiento en grano (ambos calculados como la diferencia entre el tratamiento N0 y el tratamiento N1-3 con el mayor rendimiento) y B) relación entre la concentración de proteína del grano y el rendimiento en los tratamientos sin (N0) y con el mayor nivel de N (N3). Las líneas representan la función ajustada.

Dentro de cada experimento, la concentración de proteína en el grano tendió a aumentar con la fertilización nitrogenada, mientras que, al comparar entre experimentos, la concentración de proteína en el grano tendió a disminuir con el aumento del rendimiento. Estos resultados sugieren que la concentración de proteína en el grano fue una consecuencia del equilibrio entre la disponibilidad de N y la demanda de N para el rendimiento. Para cuantificar esta relación, se calculó un índice dividiendo la disponibilidad de N por el rendimiento ($N_{disp} / Rend$). La disponibilidad de N se calculó como la suma del nitrato del suelo (0 a 60 cm) y del N del fertilizante. Este índice ($N_{disp} / Rend$) representó los kilogramos de N disponible (suelo + fertilizante) por tonelada de rendimiento, y la concentración de proteína del grano se asoció significativamente con él (Fig. 2-4).

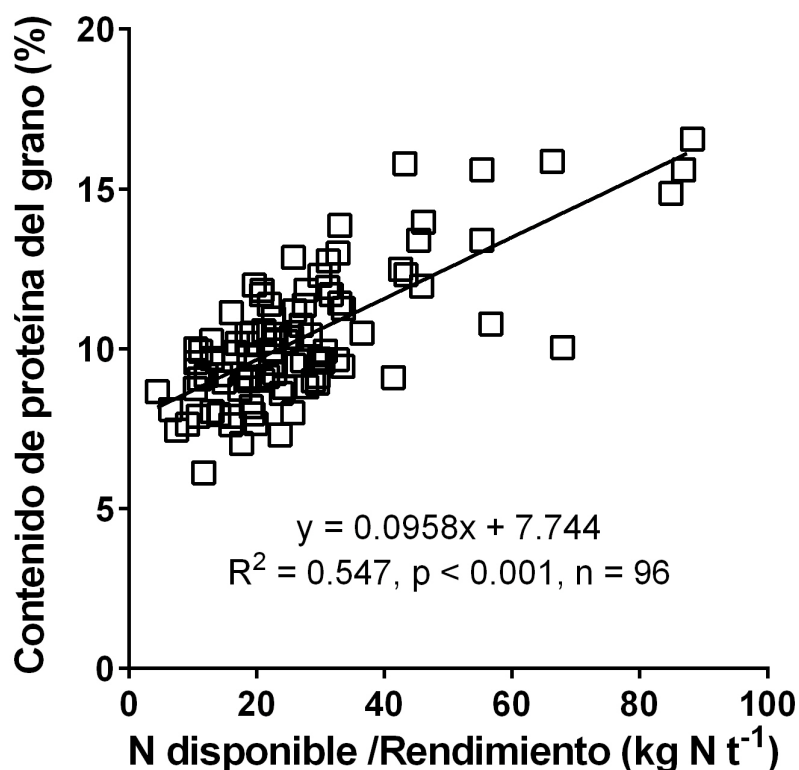


Figura 2-4: Relación entre la concentración de proteína del grano y el cociente entre la disponibilidad de N (la suma del N-nitrato del suelo hasta 60 cm de profundidad y el N añadido como fertilizante) y el rendimiento en grano. Cada símbolo representa la media de un tratamiento en un sitio experimental. La línea representa la función ajustada.

2.4. Discusión

2.4.1. Efectos del N y regulación climática del rendimiento, proteína y calibre del grano

Los efectos de la fertilización nitrogenada sobre el cultivo fueron consistentes con lo observado por otros autores: aumento del rendimiento asociado a un incremento del número de granos, aumento de la concentración de proteína, disminución del calibre del grano y, en unos pocos casos, del peso individual del grano (McKenzie et al., 2005; O'Donovan et al., 2011; Sainju et al., 2013.).

Estos resultados muestran que las precipitaciones afectan las respuestas del rendimiento y la concentración de proteína en grano a la fertilización nitrogenada de

una manera diferente. En la región pampeana, como en otras regiones agrícolas del mundo, la disponibilidad de agua es el factor más importante que afecta el rendimiento (Calviño y Sadras 2002; Verón et al., 2004). En este trabajo, los efectos de la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento fueron condicionados por la disponibilidad de agua: el modelo de respuesta del rendimiento al N incluyó el producto de la dosis de fertilización nitrogenada y la precipitación (ciclo completo del cultivo). Estos resultados fueron consistentes con las observaciones de Reussi Calvo et al. (2013) en trigo y de Abeledo et al. (2011) en cebada. Por otro lado, cabe destacar que los efectos de la fertilización nitrogenada sobre la concentración de proteína en el grano no estuvieron condicionados por la disponibilidad de agua (las precipitaciones no se incluyeron en el modelo de respuesta a la concentración de proteína en el grano). Entonces, la sequía tiende a disminuir los efectos de la fertilización N sobre el rendimiento, pero no los efectos del N sobre la concentración de proteína en el grano.

El rendimiento y el calibre de grano en las parcelas control se asociaron negativamente con la temperatura media durante el periodo crítico para la determinación del número de granos y con la temperatura media durante el periodo de llenado de granos, respectivamente. Estos efectos de la temperatura sobre el rendimiento y el calibre del grano podrían interpretarse como una consecuencia del diferente periodo del ciclo del cultivo en el que se determinan los dos principales componentes del rendimiento (número de granos y peso individual del grano). Mientras que el periodo crítico para el número de granos (y, por consiguiente, para el rendimiento) es de 40 a 10 días antes de espigazón, el periodo crítico para el peso individual del grano (y entonces para el calibre del grano) comienza en el estado de bota

y se prolonga durante el periodo de llenado del grano (Calderini et al., 2001; Araus, 2003; Arisnabarreta y Miralles, 2008).

La respuesta del rendimiento al N se vio afectada, además, por dos características del suelo: la concentración de materia orgánica y el tipo de suelo. La asociación negativa entre esta respuesta y la materia orgánica es probable que refleje los aportes de N procedentes de la mineralización. Por otro lado, la mayor respuesta del rendimiento en Argiudolls comparado con otros tipos de suelo podría ser una consecuencia de su alta capacidad de retención de agua.

2.4.2. Calibre del grano y peso individual del grano

El calibre es uno de los atributos del grano de cebada utilizados para predecir su calidad para el malteado. Se sabe desde hace tiempo que el extracto de malta (el principal indicador de la calidad de la malta) está directamente asociado al peso individual del grano y a la concentración de proteínas de los granos de cebada sin maltear (Briggs 1998). La medición del peso individual del grano es lenta y tediosa y, por lo tanto, poco práctica para su uso durante la comercialización de la cebada (Briggs 1998). Además, el calibre del grano ha mostrado una asociación más estrecha con el extracto de malta que el peso individual del grano (Mather et al., 1997; Bertholdsson, 2004). Estas son las razones por las que el calibre del grano ha sido ampliamente adoptado como una forma de evaluar rápidamente la distribución del tamaño de los granos.

En la literatura científica, las relaciones entre el calibre del grano y el peso individual de los granos, y entre las fracciones de calibre de los granos, se han estudiado usualmente comparando diferentes cultivares. Las observaciones de esta tesis muestran

que el calibre de los granos y el peso individual de los granos están positivamente asociados cuando se comparan granos del mismo cultivar de cebada, pero de diferentes ambientes. Esta asociación se ha observado previamente cuando se compararon diferentes cultivares de cebada (Mather et al., 1997; Passarella et al., 2003). En este estudio, cuando el peso individual del grano era relativamente alto (por ejemplo, superior a 38 mg), el calibre del grano no fue muy sensible a los cambios en el peso del grano individual.

Los efectos de los tratamientos y los ambientes sobre el calibre del grano se explicaron principalmente por los cambios en la fracción 1. Las variaciones en la fracción 1 se asociaron negativamente con las variaciones de la fracción 2, lo que concuerda con los resultados reportados por Fox et al. (2006) al comparar varios cultivares de cebada cervecera.

2.4.3. Determinación de la concentración de proteína en el grano

El rendimiento parece ser un factor principal en la determinación de la concentración de proteína del grano: más del 50% de la varianza de la concentración de proteína del grano podría explicarse por la variación del rendimiento. En los cereales, es ampliamente conocida la asociación negativa entre el rendimiento y la concentración de proteína cuando se comparan diferentes genotipos de la misma especie (Slafer et al., 1990; Simmonds 1995; Barraclough et al., 2010). En su revisión, Simmonds (1995) señaló que esta relación era más débil cuando se comparaban diferentes ambientes que cuando se comparaban genotipos.

Sin embargo, la asociación negativa entre el rendimiento y la concentración de proteína no se observó cuando el rendimiento varió debido a cambios en la

disponibilidad de N dentro del mismo ambiente (por ejemplo, cuando se compararon diferentes niveles de N en un determinado experimento). Otros autores han observado que cuando el rendimiento aumenta debido a la fertilización nitrogenada, puede ir acompañado de pequeñas disminuciones en la concentración de proteína del grano cuando la disponibilidad de N es muy baja, o de aumentos en la concentración de proteína del grano con una disponibilidad de N media o alta (Fischer et al., 1993; López Bellido et al., 2004).

En este estudio, se pudo establecer que la concentración de proteína en el grano estaba determinada por la relación entre la disponibilidad de N y el rendimiento, donde la disponibilidad de N se evaluó como la suma del N como nitrato en el suelo al momento de la siembra y el N aplicado con los fertilizantes. Los cambios en las concentraciones de proteína del grano dentro de cada experimento se explicaron principalmente por las variaciones en la disponibilidad de N, mientras que los cambios en la concentración de proteína del grano entre los sitios experimentales se debieron principalmente a las variaciones en el rendimiento.

Este índice de la disponibilidad de N incluye tres fuentes de N con probables eficiencias diferentes: la fertilización nitrogenada a la siembra (sitios del norte), la fertilización nitrogenada en macollaje (sitios del sur) y el nitrato del suelo. En el modelo de respuesta de la concentración de proteína del grano al N, los valores absolutos de los parámetros de las variables de fertilización nitrogenada y N del suelo fueron similares (Cuadro 2-4). Esto podría indicar que las eficiencias medias del N del fertilizante son similares a la eficiencia del N del suelo. En coincidencia, la buena asociación entre la concentración de proteína en grano y el $N_{disp}/Rend$ indica que las posibles diferencias entre las eficiencias de N no fueron muy importantes.

Otros autores han tratado de explicar las variaciones en la concentración de proteína en grano con índices que reflejan el compromiso entre la acumulación de N y la biomasa en los granos, aunque hasta donde sabemos, nadie ha utilizado el que aquí se presenta. En un estudio sobre la respuesta de la cebada a la fertilización nitrogenada realizado en Canadá, los cambios en la concentración de proteína del grano se relacionaron con la relación entre el N absorbido por el cultivo sin fertilizar más el N aplicado y el rendimiento (McKenzie et al., 2004, 2005). Otros autores han relacionado la concentración de proteína del grano con la relación entre el rendimiento y el N absorbido en el trigo (Makowski et al., 1999; Barraclough et al., 2010) y en otros cultivos (Sadras 2006). Todos estos modelos evaluaron la oferta de N midiendo el N absorbido por el cultivo, información que no está disponible al inicio del ciclo del cultivo. En el presente estudio se han utilizado dos componentes de la oferta de N del suelo (N como nitrato a la siembra y N aplicado como fertilizante).

El índice propuesto aquí no tiene valor predictivo, ya que, cuando se aplica el fertilizante, el agricultor no sabe cuál será el rendimiento. Sin embargo, este índice tiene un valor práctico porque permite al agricultor analizar cuáles son las posibles combinaciones de rendimiento y concentración de proteína que podrían obtenerse con un determinado nivel de disponibilidad de N. Además, utilizando un objetivo de rendimiento realista, este índice podría utilizarse como guía para tomar decisiones sobre las dosis de fertilizante nitrogenado a aplicar con el fin de obtener una concentración de proteína en grano deseada.

**CAPÍTULO 3: DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN
CULTIVOS DE CEBADA DEFICIENTES EN AZUFRE Y NITRÓGENO**

3.1 Introducción

En la mayoría de los cultivos de cereales, el rendimiento está estrechamente relacionado con el número de granos por unidad de superficie (Savin y Slafer, 1991; Salvagiotti et al., 2017; Zhang et al., 2019). El número de granos de cebada (y por lo tanto el rendimiento) se encuentra particularmente afectado por las condiciones ambientales durante el período comprendido entre los 40 hasta 10 días antes de espigazón (Arisnabarreta y Miralles, 2008). La TCC durante este período, conocido como el período crítico para la determinación del número de granos, está fuertemente asociada al número de granos que se obtendrá en este cultivo (Arisnabarreta y Miralles, 2008). Este periodo coincide aproximadamente con el período de activo crecimiento de la espiga por lo que no es sorprendente que, tanto en cultivos de cebada como de trigo, el número de granos esté estrechamente relacionado con el peso de la espiga en antesis (Fischer, 1985; Savin y Slafer, 1991; Zhang et al., 2019). La relación entre el número de granos y el peso de las espigas o el crecimiento del cultivo durante el periodo crítico se ha establecido evaluando cultivos de trigo y cebada sujetos a distintas condiciones ambientales y fue corroborada en cultivos sujetos a deficiencias de N (Fischer, 1993; Demotes-Mainard y Jeuffroy, 1999, 2004; Arisnabarreta y Miralles, 2010, 2015; Ferrante et al., 2012). Por el contrario, la relación entre el número de granos y el peso de las espigas o el crecimiento del cultivo durante el periodo crítico no ha sido estudiada en cultivos de trigo o cebada sujetos a deficiencias de S. La extrapolación de las observaciones obtenidas en cultivos bajo deficiencias de N (u otros estreses) a los cultivos con deficiencia de S puede llevar a conclusiones erróneas, ya que la fisiología del S y del N presentan algunas diferencias. El S es menos móvil que el N en las plantas, su removilización no aumenta bajo deficiencia de S, y los síntomas de deficiencia de S aparecen primero en las hojas más jóvenes (Zhao et al., 1999; Eriksen

et al., 2001; Anderson y Fitzgerald, 2003; Veliz et al., 2014; Gómez et al., 2021). Además, cabe destacar que el efecto del N y del S sobre muchos atributos de los cereales de invierno no son aditivos (Arata et al., 2017; 2021), por lo que resulta de interés estudiar si las diferencias en el número de granos por unidad de superficie entre cultivos deficientes en ambos nutrientes, en uno sólo de ellos o sin deficiencias está asociados a cambios en la TCC.

Los efectos de la fertilización azufrada en la determinación del número de granos en otros cultivos han sido informados en unos pocos estudios. Salvagiotti et al. (2017), en experimentos a campo en 19 ambientes (sitios x año) con maíz, observaron que, a igual tasa de crecimiento durante el período crítico, la fertilización con S aumentó el número de granos. Cabe aclarar que esto fue observado solamente bajo deficiencia de P. Este resultado sugiere que los efectos de la fertilización con S sobre el número de granos no se explican totalmente por los cambios en la TCC durante el período crítico en los cultivos de maíz. De la misma manera, Gutiérrez Boem et al. (2007) en experimentos a campo en 3 ambientes (sitios x año) con soja, observaron que las variaciones en el número de granos no fueron explicadas por los cambios en la TCC durante el período crítico.

El objetivo de este estudio fue determinar qué cambios en el cultivo de cebada cervecera permiten explicar los incrementos en el número de granos determinados por la fertilización azufrada y nitrogenada. La hipótesis a poner a prueba es que los efectos del S, el N y su interacción sobre el número de granos por unidad de superficie se asocian positivamente con los cambios en la TCC y en el cociente fototérmico durante el período crítico.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Experimentos

Para cumplir los objetivos propuestos en el presente capítulo se realizaron mediciones en los tres experimentos realizados en Junín descritos en el capítulo 2 (sitios 17, 18 y 19). Los tratamientos resultaron de la combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S a la siembra. Los niveles de disponibilidad de N fueron: N0: sin adición de N; N2: adición de N para alcanzar 100 kg ha⁻¹ de N disponible considerando el N del suelo como nitrato del suelo hasta 60 cm de profundidad más el N de los fertilizantes; y N4: N añadido para alcanzar 160 kg ha⁻¹ de N disponible. Los niveles de disponibilidad de S fueron S0: sin adición de S; S1: fertilizado con S a razón de 10 kg S ha⁻¹. Para lograr esta combinación de tratamientos, se utilizaron los tratamientos N0 y N2 previamente descritos en el capítulo 2 (que correspondieron a los tratamientos N0S0 y N2SO en este capítulo) a los que se le sumaron cuatro tratamientos adicionales (N4S0, N0S1, N2S1 y N4S1). Los fertilizantes se aplicaron al voleo en el momento de la siembra. Se aplicaron urea y yeso como fuente de N y S, respectivamente. El N disponible en el suelo como nitrato hasta 60 cm de profundidad en el momento de la siembra estuvo comprendido entre 34 y 71 kg ha⁻¹ de N. Se aplicó fertilizante fosforado en todas las parcelas en el momento de la siembra para prevenir deficiencias de este nutriente. El diseño de los experimentos fue en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones. Cada parcela tenía una superficie de 39 m².

3.2.2. Mediciones

Se obtuvieron muestras de biomasa aérea en un área de 0,45 m² dentro de las hileras centrales de cada parcela alrededor de los 35 y 15 días antes de espigazón. Las muestras se secaron a 65 °C hasta peso constante. Dado que se ha estimado que el periodo crítico se produce entre 40 y 10 días antes del espigado (Arisnabarreta y Miralles, 2008), se eligieron las fechas de muestreo para cubrir la mayor parte del periodo sin correr el riesgo de muestrear fuera de él. Aunque el periodo en el que se realizaron estas mediciones no coincide exactamente con el periodo crítico descrito por Arisnabarreta y Miralles (2008), se puede considerar que el periodo medido representa aceptablemente bien el periodo crítico ya que incluye 20 de los 30 días del periodo establecido en dicho trabajo. La TCC durante el periodo crítico se calculó como la diferencia entre la biomasa aérea en torno a los 35 y 15 días antes de espigazón dividida por el número de días entre estas fechas de muestreo (es decir, 20 días).

La interceptación de la radiación por parte del canopeo se evaluó en las mismas fechas en que se obtuvieron las muestras de biomasa. La radiación transmitida (RT) y la radiación incidente (RI) se midieron a mediodía en días soleados utilizando un sensor cuántico lineal (Li-Cor 191SA, Li-Cor, Lincoln, NE, USA). Se realizaron cinco mediciones de RT en cada parcela colocando el sensor en la superficie del suelo y se promediaron. La RI se midió colocando el sensor sobre el canopeo. La fracción de radiación interceptada (FRI) se estimó como $(RI-RT) / RI$. Entre los dos días de medición, se estimó que la FRI aumentaba linealmente cada día mediante la siguiente ecuación

$$FRId = FRI0 + (FRIf - FRI0) / D \times d$$

Donde FRId es la FRI en un día intermedio (d), FRI0 es la FRI en el día inicial, FRIf es la FRI en el día final y D es el número de días entre el día de medición inicial y el final.

La radiación diaria interceptada se estimó multiplicando la FRI por la radiación solar total incidente por 0,48 (es decir, la relación entre la radiación fotosintéticamente activa y la radiación total; Szeicz 1974). Los datos de la radiación solar incidente diaria se obtuvieron de la base de datos POWER de la NASA (<http://power.larc.nasa.gov/>) (Zhang et al., 2009). La radiación interceptada acumulada se estimó sumando la radiación interceptada diaria entre los dos días de medición. La eficiencia en el uso de la radiación se calculó como la relación entre la TCC y la media diaria de la radiación fotosintéticamente activa interceptada durante el periodo crítico. El cociente fototérmico durante el periodo crítico se calculó como la relación entre la radiación media diaria interceptada y la temperatura, con la temperatura base estimada en 0°C (Demotes-Maynard y Jeuffroy, 2001a).

En madurez comercial del cultivo, se tomaron muestras de biomasa aérea de un metro cuadrado de las hileras centrales de cada parcela y se secaron a 65 °C hasta peso constante. Las muestras se pesaron para determinar la biomasa total y se trillaron con una trilladora estacionaria. Las muestras de rendimiento en grano se secaron en estufa a 65 °C y se ajustaron a un contenido de humedad del 12%. El peso medio individual del grano se determinó contando y pesando tres submuestras de 100 granos tomadas de cada parcela. El número de granos por unidad de superficie se calculó dividiendo el rendimiento en grano por el peso individual del grano.

3.2.3. *Análisis estadístico*

Los datos se sometieron a un análisis de la varianza utilizando un modelo factorial en el que los experimentos y los niveles de N y S se consideraron efectos fijos. Se utilizó un análisis de regresión simple para evaluar la relación entre las variables.

El efecto de S en las relaciones entre la TCC o el cociente fototérmico durante el periodo crítico y el número de granos por unidad de superficie se evaluó comparando las funciones ajustadas para cada nivel de S. Del mismo modo, el efecto del N sobre estas relaciones se evaluó comparando las funciones ajustadas para cada nivel de N. Las funciones ajustadas para los diferentes niveles se compararon con una prueba F. Si las funciones ajustadas para los distintos niveles no diferían significativamente ($p > 0,05$), se realizó un ajuste global para todo el conjunto de datos.

Cuando se analizó la relación entre los valores absolutos de la TCC durante el período crítico y el número de granos, los datos variaron debido al efecto de los experimentos y los tratamientos (niveles de N y S). Como el objetivo principal del trabajo era conocer los efectos del S y del N sobre esta relación, se analizaron tres relaciones entre valores estandarizados para aislar la variación debida a estos nutrientes:

i) La relación entre los valores relativos calculados dividiendo el valor de cada tratamiento por el valor medio del experimento (Número de Granos Relativo_{Exp} y TCC Relativo_{Exp}). Estos datos varían debido al efecto de los tratamientos eliminando la variación debida a los experimentos.

ii) La relación entre los valores relativos calculados dividiendo el valor de cada tratamiento por el valor medio de los niveles de fertilización N de ese tratamiento en cada experimento (Número de Granos Relativo_{NxExp} y TCC Relativo_{NxExp}). Estos datos varían debido al efecto de la fertilización S, eliminando la variación debida a la fertilización N y a los experimentos.

iii) La relación entre los valores relativos calculados dividiendo el valor de cada tratamiento por el valor medio de los niveles de fertilización S de ese tratamiento en cada experimento (Número de Granos Relativo_{SxExp} y TCC Relativo_{SxExp}). Estos datos

varían debido al efecto de la fertilización N, eliminando la variación debida a la fertilización S y a los experimentos.

3.4. Resultados

El rendimiento en grano varió entre 1551 y 4117 kg ha⁻¹. La fertilización nitrogenada aumentó el rendimiento en grano un 8,4%, mientras que la fertilización azufrada aumentó el rendimiento en grano en un 9,3% (promedio de todos los sitios) (Cuadros 3-1 y 3-2). El mayor efecto de la fertilización nitrogenada se observó en 2006, cuando el rendimiento aumentó un 13,5%. El número de granos siguió la misma tendencia que el rendimiento en grano. En promedio, el número de granos aumentó un 12,6% y un 9,4% como efecto de la fertilización nitrogenada y azufrada, respectivamente (Cuadros 3-1 y 3-2). Considerando los tres experimentos y todos los tratamientos, el rendimiento se asoció positiva y fuertemente con el número de granos (Ecuación 3-1). La biomasa aérea en la madurez del cultivo también aumentó con la fertilización nitrogenada y azufrada: la fertilización nitrogenada la aumentó en un 10,7%, mientras que la fertilización azufrada lo hizo en un 7,7% (Cuadros 3-1 y 3-2). No se observó interacción entre los niveles de N y S en ninguna variable.

Rendimiento en grano (kg ha⁻¹) = 0,40674 Número de granos (m⁻²) - 359 (R² = 0,940; p=0,001) (Ecuación 3-1)

Cuadro 3-1: ANOVA (valores p) del rendimiento en grano, del número de granos y de la biomasa aérea en madurez del cultivo, así como de la tasa de crecimiento del cultivo, de la radiación interceptada acumulada (IPAR) y de la eficiencia del uso de la radiación durante el período crítico.

Variable	Efecto (valor p)						
	Exp	N	S	NxS	NxExp	SxExp	NxSxExp
Rendimiento	0,001	0,062	0,003	0,751	0,055	0,640	0,252
Número de granos	0,001	0,011	0,006	0,718	0,072	0,428	0,279
Biomasa aérea	0,001	0,007	0,005	0,518	0,273	0,159	0,147
Tasa de crecimiento	0,001	0,351	0,092	0,512	0,518	0,527	0,579
IPAR	0,001	0,001	0,097	0,610	0,037	0,475	0,857
Eficiencia de uso de radiación	0,921	0,628	0,371	0,817	0,839	0,571	0,557

Cuadro 3-2: Rendimiento en grano (Rend.), número de granos, biomasa aérea en madurez del cultivo, tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y radiación interceptada acumulada (IPAR) (media \pm error estándar) durante el período crítico afectado por la fertilización azufrada (S), la fertilización nitrogenada (N) y la interacción experimento X fertilización nitrogenada. Los datos no se muestran cuando los valores de $p > 0,10$.

Fuente de variación	Rend. (kg ha ⁻¹)	Número de granos (m ⁻²)	Biomasa aérea (g m ⁻²)	TCC (g m ⁻² día ⁻¹)	IPAR acumulada (MJ m ⁻²)
Fertilización azufrada					
S0	2900 \pm 177	7971 \pm 442	636 \pm 37	7,78 \pm 0,62	78,4 \pm 83,3
S1	3171 \pm 160	8722 \pm 391	684 \pm 36	8,85 \pm 0,71	83,3 \pm 4,7
Fertilización nitrogenada					
N0	2924 \pm 204	7871 \pm 465	630 \pm 42	----	----
N2	3012 \pm 206	8302 \pm 537	655 \pm 47	----	----
N4	3172 \pm 217	8866 \pm 536	695 \pm 45	----	----
Experimento X Fertilización nitrogenada					
2005 N0	3519 \pm 231	9609 \pm 649	----	----	93,3 \pm 5,3
N2	3754 \pm 247	10719 \pm 769	----	----	120,1 \pm 6,7
N4	3578 \pm 219	10426 \pm 678	----	----	121,3 \pm 5,5
2006 N0	3577 \pm 141	8784 \pm 357	----	----	77,4 \pm 3,8
N2	3449 \pm 104	8567 \pm 247	----	----	83,1 \pm 2,7
N4	4060 \pm 137	10413 \pm 348	----	----	86,6 \pm 2,3
2008 N0	1676 \pm 67	5221 \pm 169	----	----	45,1 \pm 2,6
N2	1832 \pm 204	5620 \pm 563	----	----	46 \pm 4,1
N4	1878 \pm 147	5759 \pm 427	----	----	54,6 \pm 3

La fertilización azufrada aumentó la TCC durante el periodo crítico, mientras que la fertilización nitrogenada no la modificó (Cuadro 3-2 y 3). La TCC en las parcelas con fertilización azufrada fue, en promedio, un 13,7% mayor que en las parcelas sin fertilización azufrada.

Considerando todos los experimentos y tratamientos, el número de granos estuvo estrechamente relacionado con la TCC durante el periodo crítico siguiendo un patrón curvilíneo (Fig. 3-1A). Cuando esta relación se evaluó para cada nivel de nutrientes por separado, ni las funciones ajustadas para cada nivel de S ni la función ajustada para cada nivel de N difirieron entre sí. Por lo tanto, ni la fertilización azufrada ni la de N modificaron la relación entre el número de granos y la TCC.

Cuando se eliminó la variación relacionada con los diferentes experimentos y sólo se consideró la variación relacionada con los tratamientos, la asociación entre el número de granos y la TCC durante el periodo crítico fue menos robusta y siguió una tendencia rectilínea (Fig. 3-1B). Cuando sólo se consideró la variación debida a la fertilización azufrada, el número de granos mostró una fuerte asociación con la TCC durante el periodo crítico (Fig. 3-1C); mientras que cuando sólo se consideró la variación debida a la fertilización nitrogenada, el coeficiente de correlación disminuyó (Fig. 3-1D).

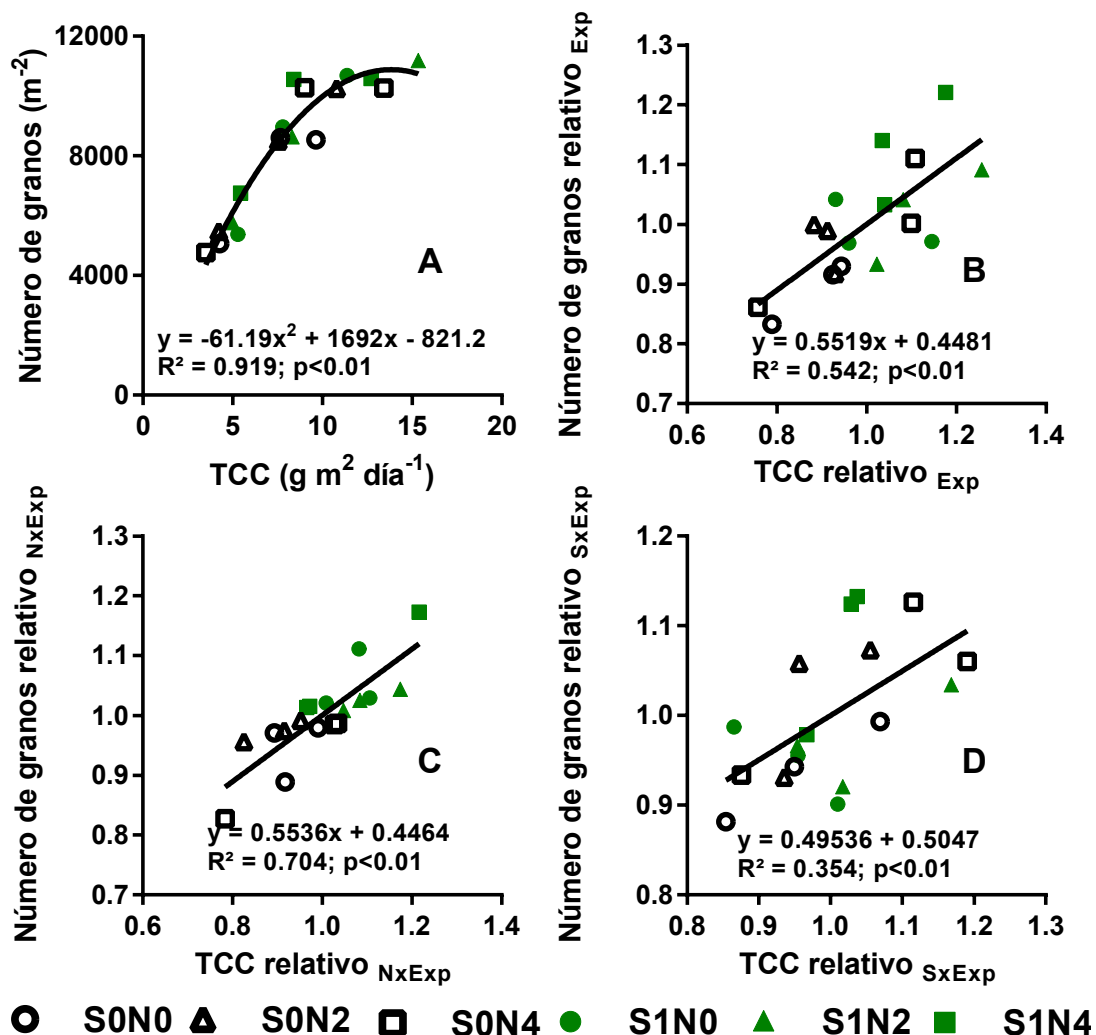


Figura 3-1: Relación entre el número de granos y la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) durante el período crítico para la determinación de los granos en cultivos de cebada sujetos a una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S, expresada como: valores absolutos (A); valores relativos calculados dividiendo la media de cada tratamiento de un experimento por la media de ese experimento (B); valores relativos calculados dividiendo la media de cada tratamiento de un experimento por la media de los niveles de fertilización N correspondiente de ese experimento (C); valores relativos calculados dividiendo la media de cada tratamiento de un experimento por la media de los niveles de fertilización S de ese experimento (D). Cada símbolo representa la media de un tratamiento en un sitio experimental. Las líneas representan las funciones ajustadas.

La radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante el periodo crítico aumentó debido a la fertilización azufrada en un 6,3% (Cuadro 3-2 y 3-3). La fertilización nitrogenada también aumentó la radiación interceptada acumulada durante

el periodo crítico. Las parcelas fertilizadas con N tuvieron un 9,3, 4,0 y 3,4% más de radiación interceptada acumulada que las parcelas sin fertilización nitrogenada en 2005, 2006 y 2008 respectivamente. Por otro lado, la eficiencia de uso de la radiación no se vio afectada por los tratamientos de fertilización. En todos los experimentos y tratamientos, la TCC durante el periodo crítico estuvo estrechamente relacionada con la radiación interceptada acumulada durante este periodo y menos relacionada con la eficiencia de uso de la radiación (Fig. 3-2).

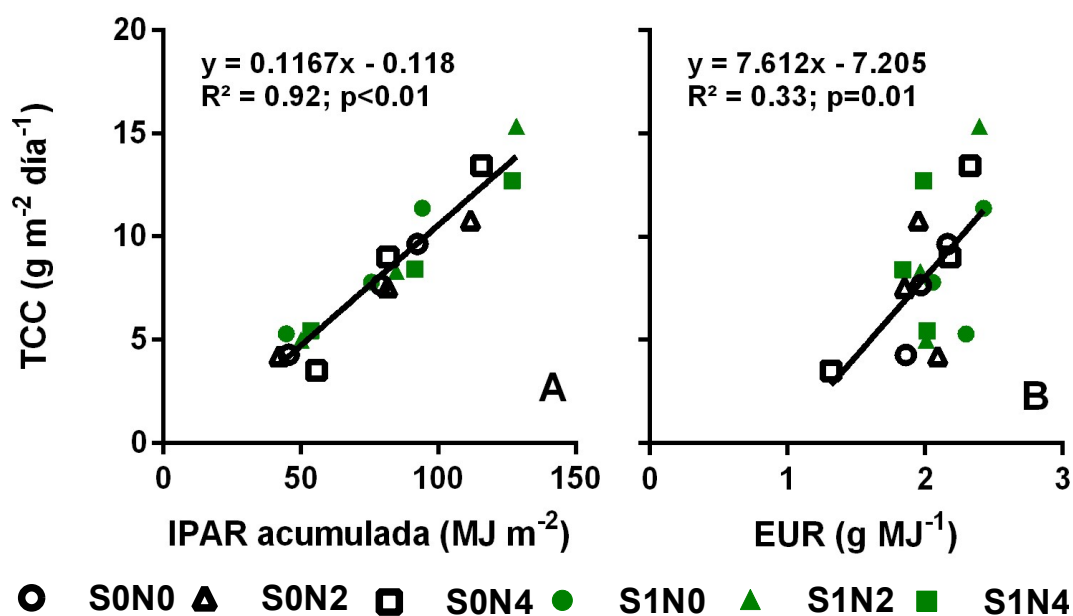


Figura 3-2: Relación entre la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y la radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (IPAR) (A), y la eficiencia en el uso de la radiación (EUR) (B) durante el período crítico para la determinación del número de granos en cultivos de cebada sujetos a una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S. Cada símbolo representa una media de tratamiento en un sitio experimental. Las líneas representan las funciones ajustadas.

Dado que el número de granos por unidad de superficie estuvo relacionado con la TCC durante el período crítico, y la TCC estuvo relacionada con la radiación interceptada acumulada, el número de granos también estuvo relacionado con la radiación interceptada acumulada siguiendo una tendencia curvilínea (Fig. 3-3A). El número de

granos por unidad de superficie se relacionó débilmente con la eficiencia de uso de la radiación (Fig. 3-3B). El número de granos también se relacionó con el cociente fototérmico durante el periodo crítico siguiendo también una tendencia curvilínea (Fig. 3-3C). Sin embargo, a pesar de considerar el efecto de la temperatura, la proporción de la variabilidad del número de granos explicada por el cociente fototérmico fue similar a la explicada por la radiación interceptada (Fig. 3-1A). Al igual que con la relación entre la TCC y el número de granos, cuando la relación entre el cociente fototérmico y el número de granos se evaluó para cada nivel de nutrientes por separado, ninguna de las funciones ajustadas para cada nivel de S o N difirió entre sí. Por lo tanto, la fertilización azufrada o N no modificó esta relación.

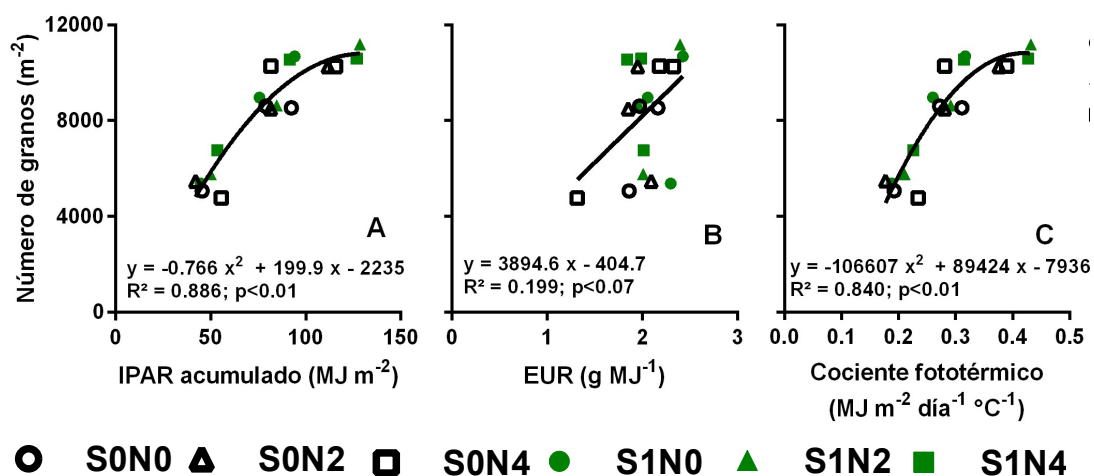


Figura 3-3: Relación entre el número de granos y la radiación fotosintéticamente activa interceptada (IPAR) acumulada (A), la eficiencia en el uso de la radiación (EUR) (B) y el cociente fototérmico (C) durante el período crítico para la determinación del grano en cultivos de cebada sujetos a una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S. Cada símbolo representa una media de tratamiento en un sitio experimental. Las líneas representan las funciones ajustadas.

3.5. Discusión

La baja magnitud de las respuestas a la fertilizaciones nitrogenada y azufrada observadas en el rendimiento, el número de granos y la biomasa aérea a la madurez indican que las deficiencias de N y S observadas en las parcelas testigo pueden

considerarse moderadas. Esta deficiencia moderada de S es típica de la Pampa Argentina (Gutiérrez Boem et al., 2007; Salvagiotti et al., 2017; Carciochi et al., 2019).

Estos resultados corroboran que las respuestas del número de granos por unidad de superficie a la fertilización azufrada y nitrogenada en los cultivos de cebada están relacionadas con los cambios en la TCC durante el período crítico, ya que a) el número de granos se relacionó con la TCC durante el período crítico en las parcelas deficientes en N y S y fertilizadas; b) cuando se ajustó una función diferente para cada nivel de S o N, estas funciones ajustadas no difirieron entre sí (en otras palabras, los tratamientos con y sin fertilización de S y con los tres niveles de N se encontraban todos a lo largo de la misma línea de regresión) y; c) cuando sólo se consideró la variación relacionada con la fertilización de S (o N) estandarizando las variables, la asociación se mantuvo (Fig. 3-1). Estos resultados concuerdan con trabajos anteriores que han reportado que la respuesta del número de granos a la fertilización nitrogenada estaba relacionada con los cambios en la biomasa de las espigas en anthesis, la biomasa de las espigas estaba relacionada con la tasa de crecimiento de las espigas durante el periodo de crecimiento de las mismas y la tasa de crecimiento de las espigas estaba relacionada con la TCC (Fischer, 1993; Dreccer et al., 2000; Lazaro et al., 2010).

La relación entre el número de granos y la TCC durante el periodo crítico siguió una tendencia curvilínea con incrementos decrecientes en valores altos de tasa de crecimiento. En trabajos anteriores sobre los cultivos de cebada y trigo, esta relación siguió una tendencia lineal (Dreccer et al., 2000; Arisnabarreta y Miralles, 2008), pero nuestras observaciones coinciden con investigaciones anteriores sobre el maíz (Andrade et al., 1999; Salvagiotti et al., 2017). Cuando las variables se estandarizaron dividiendo por la media del experimento, la relación se vuelve lineal. Por lo tanto, la tendencia

curvilínea fue una consecuencia de la variabilidad entre experimentos y no una consecuencia de los tratamientos de fertilización dentro de cada sitio experimental. Siguiendo a Fischer (1984), el número de granos podría analizarse como el producto de la TCC durante el crecimiento de la espiga, la longitud del crecimiento de la espiga, la proporción de la biomasa repartida en la espiga y la eficiencia de fructificación. A la vez, la eficiencia de fructificación puede analizarse como el producto de la eficiencia de flores fértiles (número de flores fértiles por unidad de biomasa de espiga) por el cuaje de grano (número de grano por flor fértil) (Pretini et al., 2020). Si la relación entre el número de granos y la TCC durante el periodo crítico sigue una tendencia lineal, esto implica que la longitud del crecimiento de la espiga, la proporción de la biomasa (i.e. partición) en la espiga y la eficiencia de fructificación (y por lo tanto la eficiencia de flores fértiles y el cuaje de los granos) fueron constantes. Así, la tendencia lineal observada cuando los datos variaron como consecuencia de la fertilización con S y N sugiere que la fertilización con S y N no modificó la longitud del crecimiento de la espiga, la proporción de la biomasa en la espiga y la eficiencia de fructificación. Otros autores han informado que la fertilización nitrogenada no modifica la eficiencia de la fructificación (Fischer, 1993; Ferrante et al., 2012), pero aumenta la proporción de biomasa en la espiga (Fischer, 1993; Demotes-Mainard y Jeuffroy, 2001b). Fischer (1993) señala que el N modifica la partición de la biomasa a la espiga sólo bajo deficiencias severas, y nuestras observaciones se hicieron bajo deficiencias moderadas de N (y de S).

En el presente estudio, la TCC durante el periodo crítico estuvo asociada en gran medida a la radiación interceptada acumulada y ligeramente asociada a la eficiencia de uso de la radiación, tal y como se había informado anteriormente (Fischer, 1993; Arisnabarreta y Miralles, 2008; Lázaro et al., 2010; Arisnabarreta y Miralles, 2015). Los

valores de eficiencia de uso de radiación y de radiación interceptada acumulada observados se encuentran comprendidos entre los establecidos en trabajos previos (Fischer, 1993; Arisnabarreta y Miralles, 2008; Lázaro et al., 2010; Arisnabarreta y Miralles, 2015). La fertilización con S y N no aumentó la eficiencia del uso de la radiación que presento. Esto coincide con las observaciones de Salvagiotti y Miralles (2008) en cultivos de trigo fertilizados con S y N, pero contrasta con otras observaciones en experimentos de fertilización nitrogenada (Fischer, 1993; Arisnabarreta y Miralles, 2010, 2015). Esto es probablemente una consecuencia de la deficiencia nutricional moderada en los experimentos reportados por Salvagiotti y Miralles (2008) y en esta tesis. Como consecuencia de las estrechas asociaciones entre el número de granos y la TCC durante el periodo crítico y entre la TCC y la radiación interceptada acumulada, el número de granos estuvo estrechamente asociado con la radiación interceptada acumulada en forma similar a lo observado en cultivos de cebada sujetos a otros estreses abióticos (García et al., 2015).

El número de granos se asoció con el cociente fototérmico durante el periodo crítico. El cociente fototérmico refleja el efecto positivo de la radiación sobre el crecimiento y el efecto negativo de la temperatura sobre la longitud del crecimiento de las espigas. Se ha reportado que el cociente fototérmico está relacionado con el número de granos en cultivos sin limitaciones de agua o nutrientes (Fischer, 1985; Savin y Slafer, 1991). Otros autores reportaron que, a igual cociente fototérmico, el número de granos en cultivos con deficiencia de N fue menor que en cultivos fertilizados con N (Demotes-Mainard y Jeuffroy, 2001a; Arisnabarreta y Miralles, 2015). Esta diferencia en el número de granos para un mismo cociente fototérmico se produjo porque el cociente fototérmico considera los efectos de la fertilización nitrogenada en la intercepción de la radiación, pero no los efectos del N en la eficiencia del uso de la radiación. Es probable

que el cociente fototérmico estuviera relacionado con el número de granos en esta tesis porque las deficiencias de N fueron moderadas y no disminuyeron la eficiencia de uso de la radiación. Por otro lado, la relación entre el cociente fototérmico y el número de granos fue similar a la relación entre la radiación interceptada acumulada y el número de granos. El poder explicativo (R^2) similar de la radiación interceptada acumulada y del cociente fototérmico indica que la variación de la temperatura entre los experimentos no fue relevante.

En conclusión, esta tesis presenta evidencia de que bajo un estrés moderado de S (y N), en los cultivos de cebada a) la TCC y el cociente fototérmico durante el período crítico están asociados con el número de granos por unidad de superficie en los cultivos de cebada y b) el crecimiento del cultivo varía principalmente como efecto de los cambios en la radiación interceptada. Así, la fertilización con S (y N) aumenta el número de granos (y el rendimiento del cultivo) al incrementar la intercepción de la radiación durante el periodo crítico, probablemente como consecuencia del aumento del área foliar.

**CAPITULO 4: EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN AZUFRADA Y SU
INTERACCIÓN CON LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA SOBRE LA
CALIDAD MALTERA**

4.1. Introducción

El manejo del cultivo es un factor determinante en la calidad industrial de la cebada cervecera. Uno de los efectos más generalizados de la fertilización nitrogenada es la disminución del extracto de malta (Eagles et al., 1995; García del Moral et al., 1998). Como ha sido detallado previamente, el extracto de malta disminuye cuando la concentración proteica de los granos aumenta o cuando el tamaño de los granos disminuye (Bishop, 1930a; 1930b; García del Moral et al., 1998). Por lo tanto, la disminución del extracto de malta por efecto de la fertilización nitrogenada puede interpretarse como una consecuencia directa del aumento en la concentración proteica y la disminución en el tamaño de los granos que suelen producir la fertilización nitrogenada (Stark y Brown, 1987; Eagles et al., 1995; Zhao et al., 2006).

Las diferencias en el extracto de malta de las distintas muestras de grano no pueden explicarse totalmente por las variaciones en la concentración de proteínas y el tamaño del grano. Se ha propuesto que, además de la concentración proteica y del tamaño de los granos, las variaciones en la cantidad y composición de las hordeínas podrían ser factores determinantes del extracto de malta. Se han observado asociaciones positivas entre el extracto de malta y la proporción de hordeínas B/C tanto al comparar diferentes cultivares (Peltonen et al., 1994) como al comparar muestras del mismo cultivar provenientes de diferentes zonas de cultivo (Molina Cano et al., 2002, 2004). Estos resultados sugieren que, además del efecto negativo de la concentración de proteína del grano sobre el extracto de malta, una mayor proporción de hordeínas B sería positiva para este atributo de la malta. Otros estudios informaron que la concentración de hordeínas D se asociaba negativamente con el extracto de malta (Howard et al., 1996, Molina Cano et al., 2002; Otero et al., 2021).

En plantas de cebada cultivadas en hidroponia, las deficiencias de S aumentaron la proporción de hordeínas C (pobres en S) y disminuyeron la proporción de hordeínas B y D (Shewry et al., 1983; Rahman et al., 1983; Holopainen et al., 2015). Complementariamente, en cultivos "in vitro" de espigas se observó que la deficiencia de N disminuyó la proporción de hordeínas pobres en S y aumentó las ricas en S (Qi et al., 2006). Estos estudios sugieren que la proporción de hordeínas ricas en S y pobres en S es modulada por las deficiencias de N y S. Estos experimentos se llevaron a cabo en condiciones controladas que permiten alcanzar severas deficiencias de nutrientes, que raramente se encuentran en los agroecosistemas. Por lo tanto, la extrapolación de los resultados obtenidos en condiciones controladas a los agroecosistemas debe realizarse con precaución. Los experimentos de campo no mostraron resultados tan claros. En un conjunto de ensayos realizados en España y Canadá, Molina Cano et al. (2004) observaron que la fertilización nitrogenada aumentaba la concentración de todas las fracciones de hordeína, sin alterar significativamente la proporción de cada una de ellas. En un experimento realizado en contenedores, Savin et al. (2006) tampoco observan cambios en las proporciones de hordeínas debido a la fertilización nitrogenada.

Si la composición de hordeínas del grano afecta al extracto de malta y si la disponibilidad de S en el suelo regula la composición de hordeínas del grano, cabría esperar que la fertilización azufrada modificara el extracto de malta. Sin embargo, la fertilización azufrada no afectó al extracto de malta en dos conjuntos de experimentos de campo, uno realizado en el Reino Unido en el que se observó un aumento del rendimiento en grano, y otro realizado en Finlandia en el que no se observó ningún aumento del rendimiento debido a la fertilización azufrada (Zhao et al., 2006; Holopainen et al., 2015).

Los objetivos de este capítulo son determinar los efectos de la fertilización azufrada bajo diferentes niveles de disponibilidad de N sobre i) las cantidades relativas de fracciones de hordeínas en los granos, y ii) el extracto de malta y otros parámetros de calidad de la malta. Se pondrá a prueba la hipótesis que el extracto de malta está determinado, entre otras características, por la concentración proteico de los granos que disminuye por efectos de deficiencias nitrogenada y por la abundancia de las hordeínas B y γ (ricas en S) cuya concentración disminuye con la deficiencia de S. Por lo tanto, las deficiencias moderadas de S determinan una disminución en el extracto de malta debido a la disminución en las fracciones B y γ (ricas en este elemento) y en la relación entre las fracciones B/C, mientras que las deficiencias de N lo aumentan debido a la disminución de la concentración proteica (total) de los granos. Los granos de cebada producen malta con mayor extracto cuanto mayor es su concentración de S debido al incremento en las fracciones de hordeínas ricas en este elemento que han sido asociadas a mayores valores de extracto.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Experimentos

Para cumplir los objetivos propuestos en el presente capítulo se realizaron mediciones en seis experimentos: los tres realizados en Junín descriptos en el capítulo 3 (sitios 17, 18 y 19 descriptos en el capítulo 2, cuadro 2-1) y tres realizados en Baigorrita (sitios 14, 15 y 16 descriptos en el capítulo 2, cuadro 2-1) con el mismo diseño experimental que los descriptos en el capítulo 3 (seis tratamientos resultantes de la combinación factorial de dos niveles de S y tres de N). En síntesis, se realizaron seis experimentos a campo con cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L., cultivar Scarlett) en dos localidades del norte de la provincia de Buenos Aires (Junín, alrededor de 34°63'S, 60°95'W y

Baigorrita, alrededor de 34°70'S, 61°00'W), entre 2005 y 2008 (Cuadro 2-1). El clima de esta zona es templado húmedo, con 850 mm de precipitación media anual, y 16 °C de temperatura media. Las principales diferencias entre los sitios de Junín y Baigorrita fueron el tipo de suelo. Los suelos fueron Hapludoll éntico en los sitios de Junin, y Hapludoll típico en los sitios de Baigorrita. En cada lugar, los tres experimentos estaban ubicados en sitios diferentes pero cercanos entre sí. Los experimentos se establecieron en campos de productores agropecuarios, y las prácticas de manejo fueron las utilizadas normalmente por ellos. Los experimentos se sembraron a principios de julio (distancia entre hileras de 17,5 cm) y se cosecharon a finales de noviembre. El cultivo anterior fue soja en todos los sitios.

4.2.2. Mediciones

En madurez comercial (humedad del grano del 12%) se cosechó un metro cuadrado de cada parcela para determinar el rendimiento en grano, el calibre y la concentración proteica y de S de los granos, y dos metros cuadrados de cada parcela para realizar los análisis de hordeínas y calidad de la malta. Las muestras se trillaron a mano. Las muestras de rendimiento en grano se secaron en estufa a 65°C y el rendimiento en grano se ajustó a un contenido de humedad estándar del 12%. Las muestras de calidad maltera se secaron al aire.

El calibre del grano se determinó con una calibradora (Sortimat, Pfeuffer GmbH) con tres tamices calibrados con orificios de distinto ancho (2,8, 2,5 y 2,2 mm). Para ello, se colocó una muestra de 100 g de grano en el tamiz superior (2,8 mm) y se agitó durante cinco minutos. Cada muestra de grano se separó en cuatro fracciones de ancho de grano: >2,8 mm, 2,8-2,5 mm, 2,5-2,2 mm y <2,2 mm. El calibre del grano (%>2,5 mm) se calculó como el porcentaje en peso de los granos retenidos por los dos primeros

tamices. La concentración de N de los granos se midió en los digestos Kjeldahl por colorimetría (Baethgen y Alley, 1989), y la concentración de proteínas se calculó multiplicando la concentración de N por un factor de 6,25. La concentración de S de los granos se midió por turbidimetría tras una digestión húmeda con ácidos nítrico y perclórico (Tabatai y Bremmer 1970; San Martín et al., 1987).

Los granos destinados a medir la calidad industrial del grano se almacenaron durante los cinco meses siguientes a la cosecha y luego se maltearon con un sistema automático de micromalteado (Phoenix Systems, Kingswood, South Australia). Muestras de 400 g de semillas de cada réplica se remojaron a 15°C utilizando el siguiente régimen: 4 h húmedo, 19 h seco, 5 h húmedo y 19 h seco. El período de germinación fue de 120 h a 15°C y el período de secado fue de 14 h a 50°C, 1 h a 60°C, 1 h a 70°C y 8 h a 80°C. A continuación, las raíces y los brotes se retiraron manualmente de la malta. El extracto de malta (4,5,1 EBC) y la ALA (4,11,1 EBC) se midieron siguiendo la metodología EBC (European Brewery Convention, 1998). La dureza de la malta se evaluó en un medidor de dureza y estructura Brabender conectado a un farinógrafo-resistógrafo Brabender (Brabender, Duisburg, Alemania) de forma similar a la descrita por Hallgren y Murty (1983). Este dispositivo mide la energía necesaria para moler una muestra de malta. Durante la molienda de la malta, el par de torsión se registró gráficamente y el trabajo se midió por el área del pico expresado en Joules. De cada muestra de malta se tomaron tres alícuotas de 50 g para esta medición. Las muestras de malta de Junín 2008 se perdieron en un accidente de laboratorio por lo que no pudieron realizarse mediciones en ellas.

Para cuantificar las hordeínas, se molieron las muestras de grano y se extrajeron unos 1000 mg de grano tres veces con 3,0 ml de NaCl al 5% (p/v) en agua desionizada. El

sobrenadante contenía las albúminas solubles en agua y las globulinas solubles en sal. Las hordeínas del residuo se extrajeron tres veces con 1-propanol al 55% (v/v) / DTT al 1,0% (p/v) (condiciones reductoras). Cada paso de extracción se inició con una mezcla en vórtex durante 2 minutos a temperatura ambiente y posterior agitación orbital durante 10 minutos a 55 °C (Celus et al., 2006). Las suspensiones se centrifugaron (1500 g; 10 min; temperatura ambiente), se combinaron los sobrenadantes y se diluyeron a 10 ml con disolvente de extracción.

Una alícuota (80 ul) de cada extracto se cargó en un equipo de cromatografía líquida de alto rendimiento (fase inversa, Agilent serie 1100) en una columna C8 (Zorbax SB C8 300Å). El sistema de elución fue ácido trifluoroacético al 0,1% en agua desionizada (eluyente 1) y ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo (eluyente 2). Las proteínas se separaron en un gradiente de eluyente 2 (del 24 al 56%) durante 50 minutos, y se determinaron con un detector UV a 214 nm (Wieser et al., 1998).

La identificación de cada familia de hordeínas se realizó mediante la comparación de los cromatogramas obtenidos en el laboratorio contra cromatogramas descritos por Celus et al. (2006) (Fig. 4-1) y corroborado mediante extracciones parcialmente selectivas para las distintas familias de hordeínas. Esta técnica permitió cuantificar las familias de hordeínas, mediante la medición del área bajo la curva en los cromatogramas.

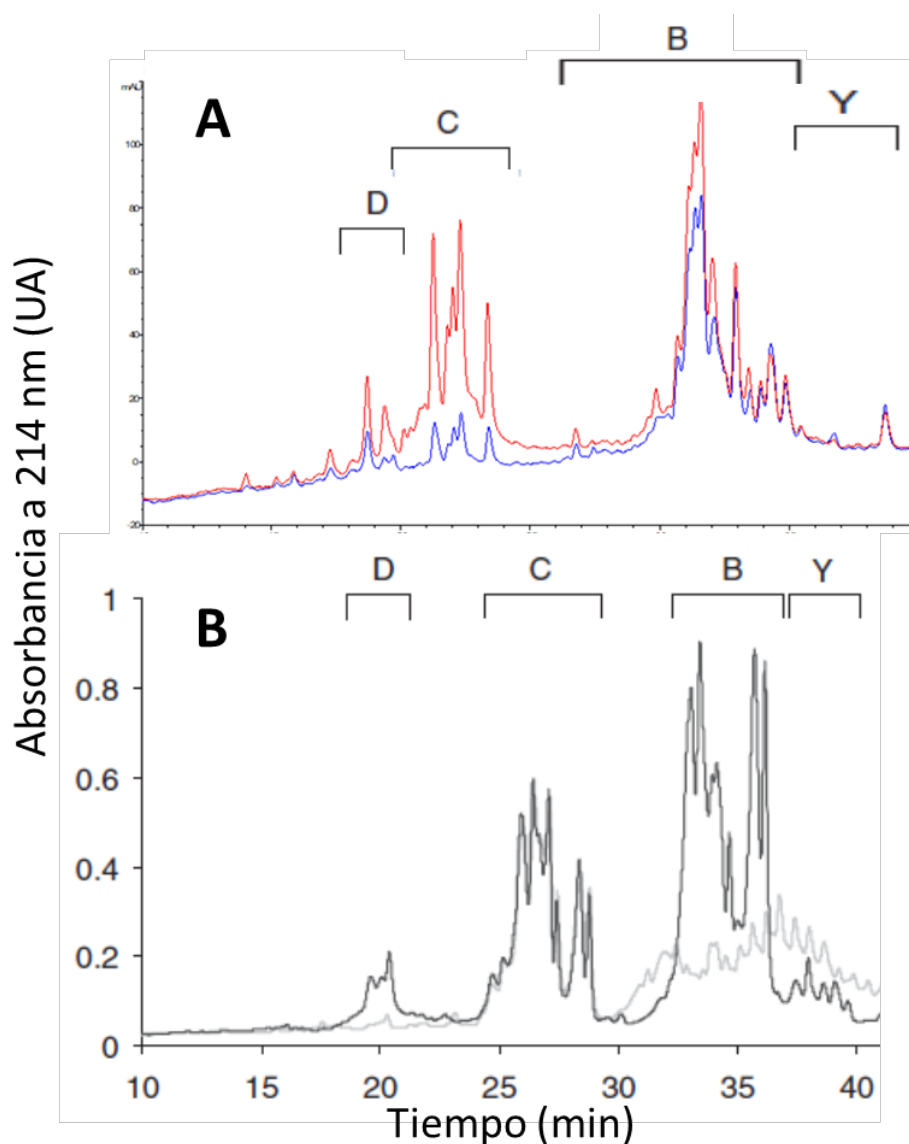


Figura 4-1: Cromatogramas comparados A) dos muestras contrastantes del sitio 18 (azul: N0S1; rojo: N4S1) y B) extraído de Celus et al. (2006) y utilizado como referencia para la identificación de las familias de hordeínas

4.2.3. Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis factorial de la varianza, en el que los niveles de N y S se consideraron efectos fijos.

El grado de asociación entre los parámetros de calidad de la malta y la composición del grano se analizó mediante análisis de correlación y regresión. Para desarrollar modelos

explicativos del extracto de malta que incluyeran más de una variable independiente se utilizó análisis de regresión múltiple. Para el análisis de regresión múltiple se siguió un procedimiento por pasos (Neter et al., 1990). El valor p de la variable seleccionada o eliminada en cada paso de selección fue de 0,05. Como segunda prueba para la selección del modelo, también calculamos el estadístico C_p de Mallows. El estadístico C_p se basa en el hecho de que la no inclusión de una variable independiente importante en el modelo hace que los valores de respuesta ajustados estén sesgados (Neter et al., 1990). El estadístico C_p es un índice de este sesgo. La autocolinealidad de las variables independientes se comprobó mediante el valor del VIF, que mostró valores bajos (de 1,5 a 2,4).

El efecto de los dos niveles de S en las relaciones entre el extracto de malta y las hordeínas totales se evaluó comparando las funciones lineales ajustadas para cada nivel de S. Las pendientes (b) de los dos niveles de S se compararon con una prueba F. Cuando las dos pendientes no eran significativamente diferentes ($p > 0,05$), se realizó un ajuste global que dio como resultado un modelo con dos líneas paralelas, con dos ordenadas al origen significativamente diferentes (prueba F), pero con una sola pendiente (una "b" común para los dos niveles de S).

4.3. Resultados

4.3.1 Rendimiento, calibre y composición del grano

El rendimiento en grano varió entre 1630 y 6400 kg ha⁻¹. Tanto la fertilización nitrogenada como azufrada aumentaron el rendimiento (Fig. 4-2, Cuadro 4-1.). En promedio de todos los sitios, el rendimiento en grano aumentó un 4,4% y 6,6% debido a la fertilización azufrada y nitrogenada, respectivamente. Los efectos de la fertilización fueron similares en todos los sitios experimentales (no se observó ninguna interacción

significativa entre el sitio experimental y el N o el S). El calibre de los granos disminuyó debido a la fertilización nitrogenada de 19 a 2% dependiendo del sitio experimental, mientras que no fue afectado por la fertilización azufrada (Fig. 4-3, Cuadro 4-1).

Cuadro 4-1: ANOVA (valores p) del rendimiento en grano, el calibre del grano, la concentración de proteína y S en el grano, la concentración total de hordeínas, la proporción de las fracciones de hordeínas y los parámetros de calidad de la malta.

Variable	Efecto (valor p)						
	Exp	N	S	NxS	NxExp	SxExp	NxSxExp
Rendimiento	<0,01	0,02	0,04	ns	ns	ns	ns
Grano:							
Calibre	<0,01	<0,01	ns	ns	<0,01	ns	ns
Proteína en grano	<0,01	<0,01	ns	ns	ns	ns	ns
S en grano	<0,01	ns	<0,01	ns	ns	ns	ns
Relación N/S	<0,01	<0,01	<0,01	ns	ns	ns	ns
Hordeínas:							
Totales	<0,01	<0,01	ns	ns	<0,01	ns	ns
Hordeína B	<0,01	<0,01	<0,01	ns	<0,01	<0,01	ns
Hordeína C	<0,01	<0,01	0,03	0,04	<0,01	<0,01	ns
Hordeína D	<0,01	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Hordeína γ	<0,01	<0,01	ns	ns	<0,01	0,03	ns
Relación B/C	<0,01	<0,01	ns	ns	<0,01	ns	ns
Calidad maltera:							
Extracto	<0,01	<0,01	0,04	ns	<0,01	ns	ns
Atenuación	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	ns	ns	ns
Dureza	<0,01	<0,01	<0,01	ns	ns	ns	ns

ns indica $p > 0,05$

La concentración de proteína en los granos varió entre 7,8 y 14,0 % y aumentó un 29,7% debido a la fertilización nitrogenada, mientras que no se vio afectada por la fertilización azufrada. La concentración de S en los granos aumentó en un 6,9% debido a la fertilización azufrada, y no fue afectada por el N (Fig. 4-2, Cuadro 4-1). La fertilización azufrada disminuyó la relación N/S en los granos, mientras que el agregado de N la aumentó. No se observaron interacciones ni entre los dos nutrientes ni entre los nutrientes y los experimentos sobre estas variables.

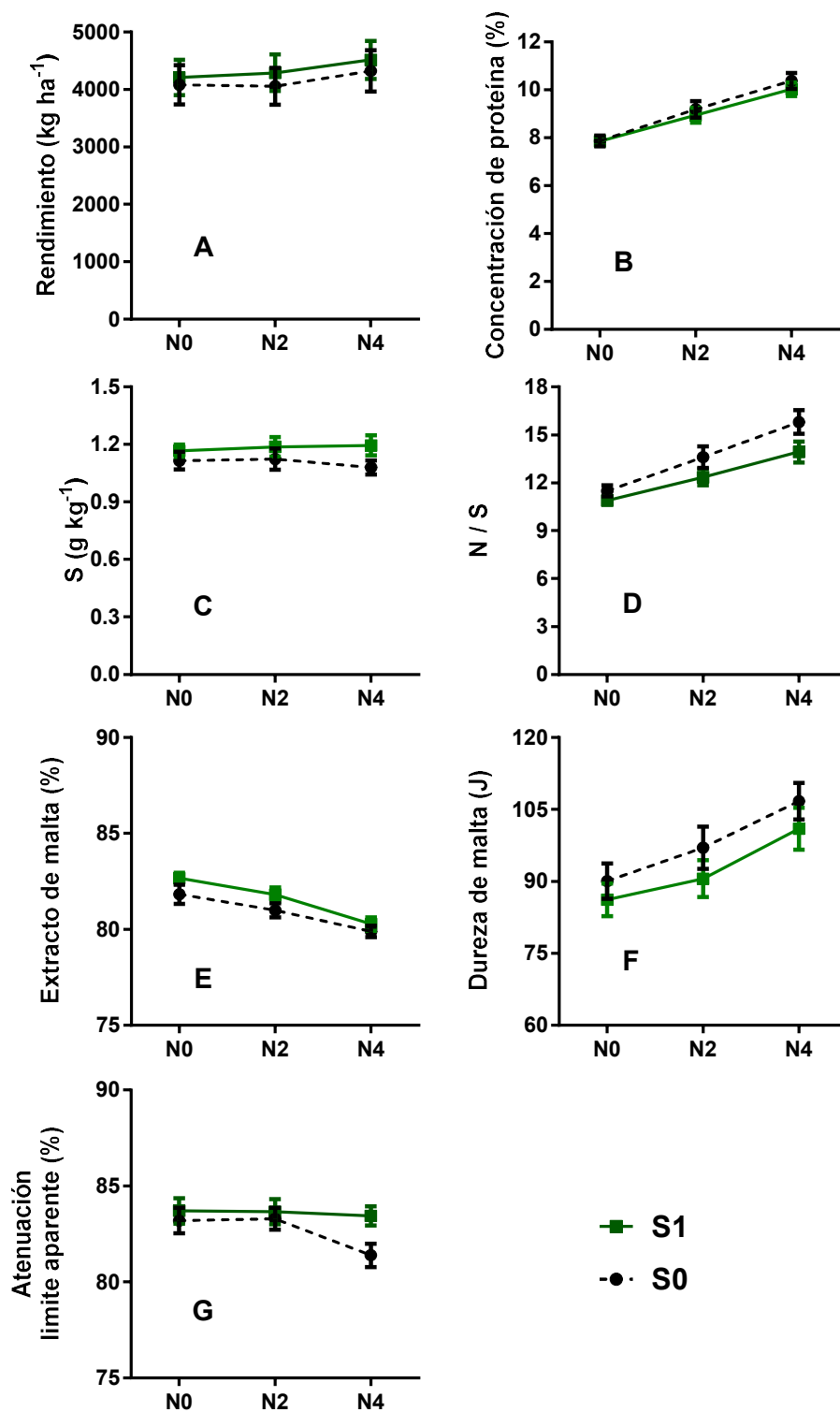


Figura 4-2: Cambios en el rendimiento de los granos (A), la concentración de proteína en los granos (B), la concentración de S en los granos (C), la relación N/S en los granos (D), el extracto de malta (E), la dureza de la malta (F) y la ALA (G) en cultivos de cebada sujetos a una combinación de tres niveles de disponibilidad de N y dos niveles de disponibilidad de S. Cada punto es la media de los 6 experimentos, y las barras verticales indican los errores estándar.

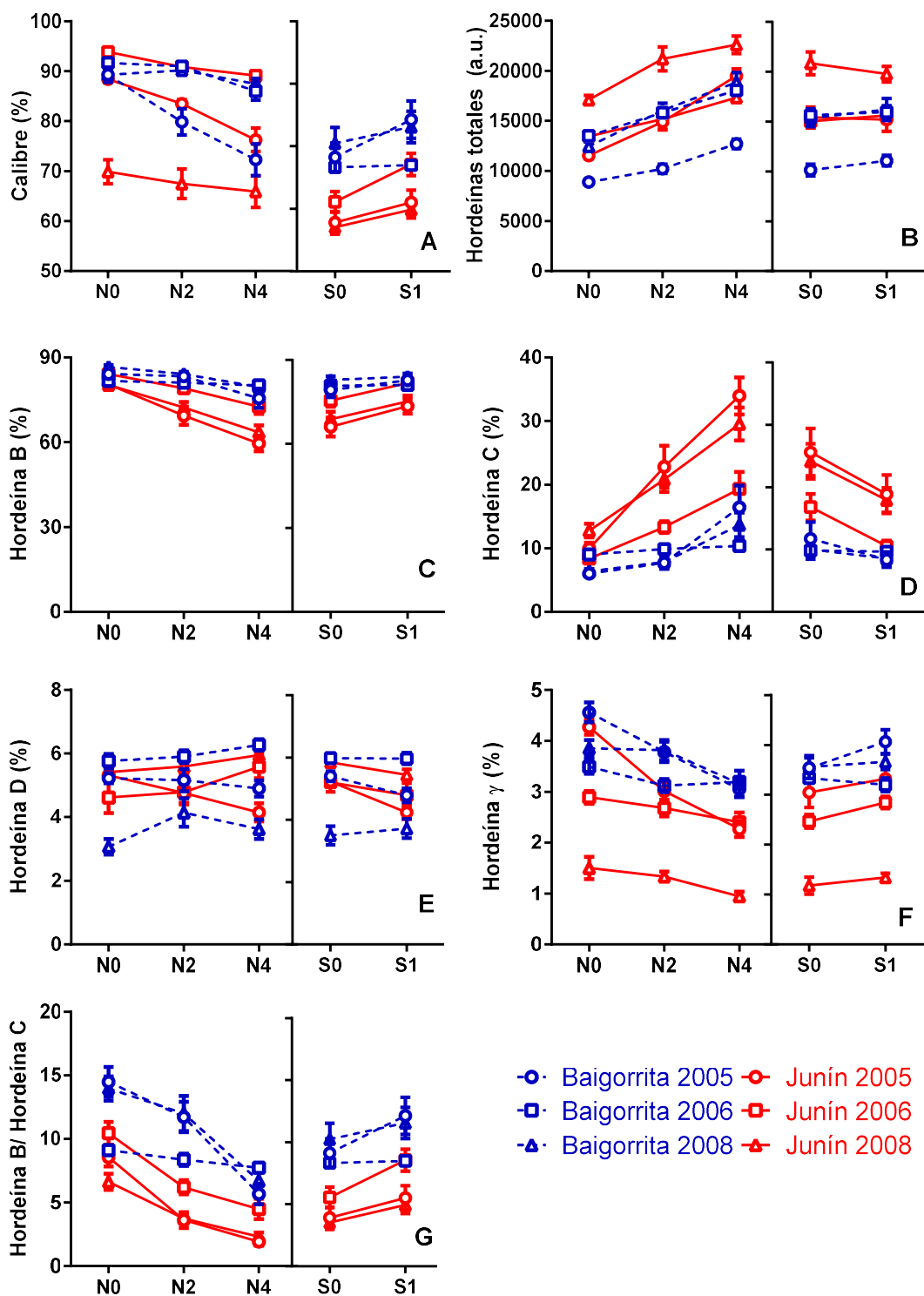


Figura 4-3: Tamaño del grano (A), concentración total de hordeínas en los granos (B), proporción de hordeínas B (C), hordeínas C (D), hordeínas D (E) y hordeínas γ (F), y la relación entre las hordeínas B y C (G) según los tres niveles de disponibilidad de N y los dos niveles de S en todos los experimentos. Cada punto representa la media de un nivel de nutrientes, promediada para todos los niveles del otro nutriente. Las barras verticales indican el error estándar. "u.a.": unidades arbitrarias.

La fertilización nitrogenada aumentó las hordeínas totales de los granos en todos los experimentos entre el 28,7 y el 69,1%, mientras que la fertilización azufrada no tuvo ningún efecto sobre ella (Cuadro 4-1, Fig. 4-3). La proporción de las dos fracciones principales de hordeínas (B y C) se vio afectada por la fertilización nitrogenada y azufrada. La fertilización nitrogenada disminuyó la proporción de hordeínas B y aumentó la de hordeínas C en todos los experimentos (Cuadro 4-1, Fig. 4-3). Se observó una interacción significativa $N \times \text{Exp}$ tanto en las hordeínas B como en las C. El efecto de la adición de N fue mayor en los experimentos de Junín (en -20,7 % en las hordeínas B y en +67,8% en las C) que en los de Baigorrita (en -6,8% en las hordeínas B y en +1,0% en las C). Por el contrario, la fertilización azufrada aumentó las hordeínas B y disminuyó las C, pero este efecto de S sólo se observó en los tres experimentos de Junín, mientras que no se observó ningún efecto en Baigorrita. La relación entre las hordeínas B y C disminuyó debido a la fertilización nitrogenada en todos los experimentos. La adición de N disminuyó más de la mitad de esta relación en 5 experimentos, con un ligero efecto en un sitio en Baigorrita (2006). La fertilización con S no afectó a la proporción de hordeínas B/C. La proporción de hordeínas D no se vio afectada por la adición de N o S, y sólo se observaron diferencias entre experimentos. La fertilización nitrogenada disminuyó la proporción de hordeínas γ en aproximadamente un 33% en los tres experimentos en Junín y en un experimento en Baigorrita (2005). La fertilización azufrada aumentó la proporción de hordeínas γ sólo en dos experimentos (Junín 2006 y Baigorrita 2005).

4.3.2. Parámetros de calidad maltera y su relación con la composición del grano

La fertilización nitrogenada aumentó la dureza de la malta en un 9,2% y disminuyó el extracto en un 1,4% en el promedio de todos los experimentos. Por el contrario, la

fertilización azufrada disminuyó la dureza de la malta en un 5,4% y aumentó el extracto en un 0,8% en todos los experimentos (Fig. 4-2, Cuadro 4-1). Se observó una interacción significativa N \times S en los efectos sobre la ALA. La fertilización nitrogenada disminuyó la ALA sólo cuando no se añadió S. Las respuestas del extracto de malta, la dureza y la ALA a la fertilización azufrada no se relacionaron significativamente con la concentración de sulfato del suelo.

El extracto de malta se correlacionó positivamente con la proporción de hordeínas B, - hordeínas γ y la relación B/C, mientras que se correlacionó negativamente con la proporción de hordeínas C (Cuadro 4-2). De todas las fracciones de hordeínas, las hordeínas γ presentaron la relación más estrecha con el extracto de malta. Sin embargo, las características del grano que presentaron las asociaciones más fuertes con el extracto de malta no fueron la proporción de las diferentes fracciones de hordeínas, sino la concentración total de hordeínas de proteínas de los granos (Cuadro 4-2, Fig. 4-4). El extracto de malta también mostró una asociación positiva con el calibre del grano, y una asociación negativa y débil con la concentración de S y la relación N/S de los granos. Muchas de estas características de los granos estaban relacionadas entre sí (Cuadro 4-2). La concentración de proteína en los granos se asoció positivamente con la concentración total de hordeínas y la proporción de hordeínas C, y negativamente con la proporción de hordeínas B y γ .

Cuadro 4-2: a) Coeficientes de correlación entre el extracto de malta y las características del grano y b) Modelos de regresión para el extracto de malta.

a) Coeficientes de correlación							
	Extracto (%)	Proteína en grano (%)	S en grano (g kg ⁻¹)	N/S en grano	Hord. B (%)	Hord. C (%)	Relación B/C
Proteína en grano (%)	-0,81**						
S en grano (g kg ⁻¹)	-0,36**	0,24**					
N/S en grano	-0,35**	0,59**	-0,62**				
Hordeínas B (%)	0,54**	-0,75**	0,15ns	-0,72**			
Hordeínas C (%)	-0,59**	0,79**	-0,08ns	0,70**	-0,99**		
Relación B/C	0,63**	-0,77**	-0,01ns	-0,61**	0,83**	-0,84**	
Hordeínas D (%)	-0,08ns	0,01ns	-0,26ns	0,21*	-0,28**	0,18*	-0,26**
Hordeínas γ (%)	0,73**	-0,69**	-0,27**	-0,36**	0,60**	-0,66**	0,70**
Hordeínas totales (a.u.)	-0,83**	0,86**	0,46**	0,32**	-0,61**	0,65**	-0,64**
Calibre (%)	0,71**	-0,58**	-0,23*	-0,28**	0,57**	-0,60**	0,56**

b) Modelos explicativos del extracto de malta		
	R ²	MSE
1 Ext = -3,836 x 10 ⁻⁴ Hor + 87,111	0,688	1,24479
2 Ext = -2,977 x 10 ⁻⁴ Hor + 0,054 Cal + 81,244	0,729	1,09283
3 Ext = -11,04 Prot + 92,77	0,653	1,38522
4 Ext = -8,1536 Prot + 0,0726 Cal + 83,638	0,744	1,03198
5 Ext = -10,3846 Prot + 0,0832 Cal - 0,0555 horB + 89,365	0,772	0,92581

*, ** indican coeficientes significativos al $p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente; ns: no significativo. Ext: extracto de malta (%); Hor: concentración total de hordeínas (u.a.); Cal: tamaño de grano (%); Prot: concentración de proteína en el grano (g kg⁻¹); horB: proporción de hordeínas B (%); MSE: cuadrado medio del error

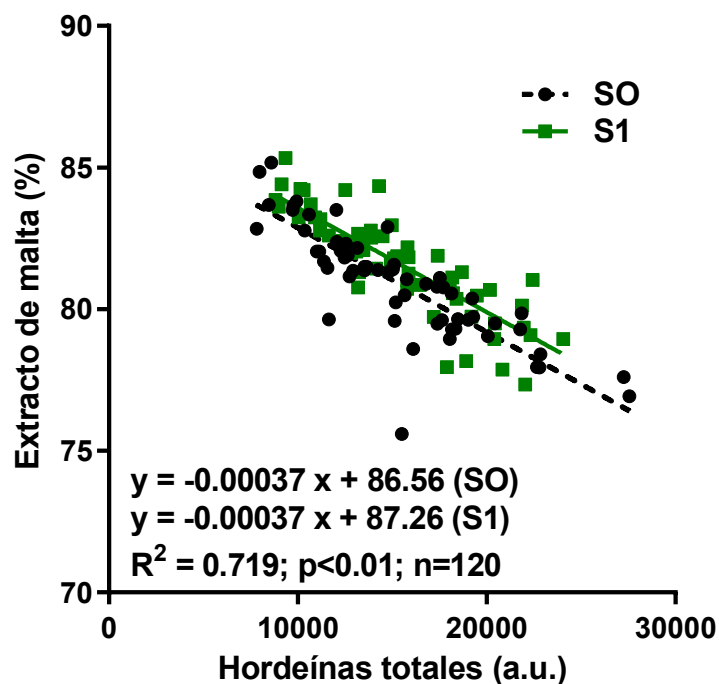


Figura 4-4: Relación entre el extracto de malta y la concentración total de hordeína de los granos. La relación está representada por un modelo de dos líneas paralelas (una por nivel de S). El R^2 es el coeficiente de determinación de este modelo.

Para evaluar si la fertilización azufrada afectó la relación entre el extracto de malta y las hordeínas totales se ajustó una recta para cada nivel de azufre y se compararon sus pendientes. Como la diferencia entre las pendientes no fue significativa ($P < 0.05$) se ajustó un modelo con una recta para cada nivel de fertilización azufrada bajo la condición que tengan la misma pendiente y se compararon las ordenadas al origen de las rectas obtenidas. Las ordenadas al origen fueron significativamente diferentes ($P < 0.01$), lo que indica que este es el modelo que mejor describe la relación entre estas variables y que, para un determinado valor de hordeínas totales, la fertilización azufrada aumentó el extracto de malta en un 0.7% (Fig. 4-4).

El Cuadro 4-2b muestra los modelos de regresión simple y múltiple para el extracto de malta. Los modelos de regresión simple con la concentración de hordeína total o de proteína de los granos como variables independientes mostraron una capacidad

explicativa similar ($R^2 = 0,65-0,68$). La inclusión del calibre de los granos como segunda variable independiente aumentó significativamente el coeficiente R^2 (en 0,04-0,09) de ambos modelos de una sola variable (Cuadro 4-2, modelos 2 y 4). La inclusión adicional de la proporción de hordeínas B mejoró ligeramente el R^2 (en 0,028) sólo en uno de estos dos modelos, el que tenía la concentración de proteína y el calibre de grano como variables explicativas. La inclusión de otras variables (por ejemplo, otras fracciones de hordeínas, proporción B/C o N/S) en esta regresión no redujo significativamente la variación no explicada del extracto de malta.

4.4. Discusión

En estos experimentos se observó un amplio rango de rendimiento en grano que refleja la variabilidad del rendimiento en la zona. Teniendo en cuenta que, en la región pampeana, al igual que en otras regiones agrícolas del mundo, la disponibilidad de agua es el factor más importante que afecta el rendimiento de los granos (Verón et al., 2004), la menor retención de agua en el suelo de Junín (Hapludol entico) probablemente haya determinado su menor rendimiento.

En el presente estudio se observó una respuesta moderada del rendimiento a la fertilización azufrada, tal como se reportó previamente en otros cultivos de granos en esta zona (Gutiérrez Boem et al., 2007; Salvagiotti et al., 2012, 2017). Esta respuesta se consideró moderada porque el rendimiento medio de grano de los cultivos fertilizados azufrada fue sólo un 4,4% superior al de los cultivos sin fertilización azufrada. La pequeña magnitud del efecto de la fertilización azufrada en este estudio contrasta con lo que se puede observar en los experimentos en maceta con plantas cultivadas en hidroponía, donde la deficiencia de S tiende a ser grave. Por ejemplo, en un experimento en maceta, el número de semillas en plantas con suficiente S fue 17 veces

mayor que en plantas con deficiencia de S (Shewry et al., 1983). Las respuestas del rendimiento a la fertilización nitrogenada también podrían considerarse moderadas: el rendimiento de los cultivos fertilizados con N fue sólo un 6,6% superior al rendimiento medio del tratamiento sin fertilización nitrogenada.

Curiosamente, incluso con deficiencias moderadas de S, en este estudio la fertilización azufrada afectó tanto a la calidad de la malta como a la composición de las hordeínas. La fertilización azufrada mejoró los tres parámetros estudiados de la calidad de la malta: aumentó el extracto de malta y el ALA, y disminuyó la dureza de la malta. No se pudo encontrar en la literatura ningún informe anterior sobre un efecto positivo de la fertilización azufrada en el extracto de malta (una de las características más importantes de la calidad de la malta). La disminución de la dureza de la malta debida a la fertilización azufrada indica un aumento de la modificación física del grano durante el proceso de malteado. En coincidencia, Zhao et al. (2006) observaron que la fertilización azufrada aumentó la friabilidad, una prueba que también refleja el grado de modificación física del grano. El ALA es una medición que refleja el potencial de fermentación del mosto en el proceso de elaboración de la cerveza (Boulton, 2013). Los efectos de la adición de S en este parámetro indicarían un cambio en la composición de los carbohidratos de la malta. Del mismo modo, Zhao et al. (2006) observaron que la fertilización azufrada aumentaba la fermentabilidad en mostos sin hervir. La fermentación del mosto sin hervir es típica de la producción de destilados como el whisky, mientras que la fermentación del mosto hervido, como la utilizada en la determinación del ALA, se realiza durante el proceso de elaboración de la cerveza (Briggs, 1998).

Tanto la fertilización azufrada como nitrogenada influyeron en la composición de las hordeínas. En consonancia con mis observaciones, en cultivos de cebada a campo, Veliz et al. (2014) observaron cambios en la expresión de las hordeínas B y C por efecto de la fertilización nitrogenada y azufrada en un sitio con deficiencia moderada de S, mientras que Holopainen et al. (2015) observaron que la fertilización azufrada modificaba la composición de las hordeínas en un sitio sin deficiencia de S. Por lo tanto, la composición de las hordeínas parece ser más sensible que el rendimiento en grano a la adición de S.

En este estudio los tratamientos provocaron cambios simultáneos en la concentración de proteínas y hordeínas del grano, el porcentaje de hordeínas B, C y γ y la relación B/C, por lo que estas variables estaban correlacionadas (Cuadro 4-2). En particular, el contenido total de proteínas estuvo altamente correlacionados con el de hordeínas sugiriendo que la proporción de hordeínas no varió de manera importante. A medida que aumentó el contenido de proteínas y hordeínas disminuyó el porcentaje de hordeínas B y aumentó el porcentaje de C, por lo que la relación B/C disminuyó coincidiendo con trabajos previos donde se analizaron distintas disponibilidades de N (Ajith et al, 2010) o ambientes climáticamente contrastantes (Molina-Cano et al., 2001).

Es interesante observar que hubo una alta correlación entre el extracto de malta y la concentración relativa de hordeínas B o la relación B/C, como han propuesto varios autores (Peltonen et al., 1994, Molina Cano et al., 2002, 2004). Estas relaciones pueden deberse a que la concentración relativa de estas fracciones de hordeínas determinó el extracto de malta, como se había propuesto anteriormente, o a que la concentración relativa de hordeínas B y C varió junto con otros parámetros (por ejemplo, la concentración de proteínas o el calibre de los granos) que realmente determinaron el

extracto de malta. Un enfoque experimental que podría confirmar la importancia de estas fracciones de hordeínas en la determinación del extracto de malta sería el uso de líneas isogénicas, como hicieron Brennan et al. (1998) para comprobar la relevancia de las hordeínas D en el extracto de malta. En un estudio como el presente, en el que varias características del grano varían simultáneamente al cambiar las condiciones ambientales (es decir, los niveles de N y S), podría considerarse que la característica del grano que más se asocia con el extracto de malta es la que más probablemente tiene una relación causal con él.

Las concentraciones de hordeínas y de proteína del grano fueron las variables que mejor explicaron las variaciones del extracto de malta. El efecto inhibitorio de las hordeínas sobre la acción de las enzimas amilolíticas en los gránulos de almidón puede explicar esta asociación (Rani y Bhardwaj, 2021; Slack et al., 1979). Los mejores modelos de dos variables obtenidos incluyeron el calibre del grano y la concentración de hordeínas o proteína en el grano. El calibre del grano es una variable estrechamente relacionada con el peso individual del grano (Magliano et al., 2014). Por lo tanto, los modelos de dos variables obtenidos fueron consistentes con el modelo clásico de Bishop (1930a; 1930b), que indica que el extracto de malta depende de la concentración de proteína del grano y del peso del grano. Los modelos de una o dos variables que incluían el porcentaje de hordeínas B o C o cualquier otra variable que reflejara la composición de hordeínas tenían valores de R^2 más bajos que los que solo incluían la concentración total de hordeínas o proteína, a pesar de que la composición de hordeínas variaba mucho entre sitios y tratamientos (el porcentaje de hordeínas B variaba entre el 50,2 y el 90,0%, y el de hordeínas C entre el 3,9 y el 43,0%). La inclusión del porcentaje de hordeínas B en un modelo de tres variables sólo mejoró el coeficiente de determinación en menos de 0,03. Estos resultados sugieren que ninguna otra variable medida, aparte de

las incluidas en el modelo, desempeñó un papel muy relevante en la determinación del extracto de malta. En el presente estudio, en el que se utilizó el mismo cultivar de cebada en todos los experimentos, la composición de hordeínas del grano tuvo un efecto menor en la determinación del extracto de malta.

Las aparentes discrepancias entre los resultados presentados en esta tesis y los antecedentes descritos en la bibliografía están relacionadas a la metodología estadística empleada: la selección de modelos de regresión multivariantes empleado en esta tesis permite detectar cuanto incrementa la explicación de la variabilidad del extracto la inclusión de una variable independiente adicional y, de esta manera, evaluar su importancia relativa. Otero et al. (2021) analizaron la información con una metodología estadística que permitió deslindar la asociación del extracto con la concentración total de las proteínas de la asociación con la composición de las hordeínas y observaron la concentración de hordeínas D era un factor menor en la determinación del extracto coincidiendo con lo observado en esta tesis. Las observaciones de esta tesis tampoco contradicen lo observado en aquellos trabajos donde se encontraron asociaciones entre el extracto y la concentración total de hordeínas (o proteínas) y asociaciones similares o menos robustas con las fracciones de hordeínas (Janes y Skerrit, 1993; Howard, 1996; Molina Cano et al., 2002; Molina Cano et al., 2004), ya que la concentración de las proteínas (o las hordeínas) y las fracciones de hordeínas, como fue explicado previamente, son variables que usualmente están altamente correlacionadas y, por lo tanto, es esperable que todas estén correlacionadas con el extracto.

El efecto de la fertilización nitrogenada sobre el extracto de malta puede explicarse por su efecto sobre la concentración de hordeínas del grano. El efecto de la fertilización azufrada sobre el extracto de malta, por el contrario, no pudo explicarse por los cambios

en la concentración de proteína u hordeínas del grano, ya que no provocó ningún cambio significativo en estas características del grano. El modelo de la Fig. 4-4 indica que la fertilización azufrada aumentó el extracto de malta en un 0,7% para un valor dado de la concentración de hordeínas del grano. Los efectos de la adición de S sobre el extracto de malta podrían explicarse entonces por su efecto sobre otros atributos de la malta que determinan el extracto, como el aumento de la actividad de las enzimas amilolíticas, tal como informaron Zhao et al. (2006).

En conclusión, el aumento del extracto de malta estuvo más asociado a la disminución de la concentración total de hordeínas que a cambios en su composición. La fertilización azufrada de los cultivos con una deficiencia moderada de S mejoró el extracto de malta, la modificación física del grano durante el proceso de malteado y la fermentabilidad de la malta. El efecto de la fertilización azufrada sobre el extracto de malta no pareció estar relacionado con los cambios en la concentración de hordeínas o de proteína en el grano.

**CAPITULO 5: EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN
ESPIGAZÓN SOBRE LA CALIDAD MALTERA**

5.1. Introducción

La fertilización foliar con urea durante antesis o espigazón es una práctica eficaz para aumentar la concentración de proteínas de los granos en los cereales de invierno (Gooding y Davies, 1992; Bulman y Smith, 1993; Wang et al., 2007). Dado que el periodo crítico para determinar el número de granos ya ha terminado durante la antesis, la fertilización en estas fases no suele afectar al rendimiento en grano (Gooding y Davies, 1992). En los sistemas productivos de la región pampeana, las fertilizaciones en espigazón son recomendadas para aumentar la concentración proteica de los granos cuando las condiciones ambientales durante las etapas previas son particularmente buenas y, por lo tanto, se espera un rendimiento alto y bajas concentraciones proteicas en el cereal obtenido.

Se sabe poco sobre la relación entre la concentración o la composición de la hordeína y la calidad de la malta cuando la concentración y la composición de la proteína varían debido a la fertilización nitrogenada en estas etapas. Unos pocos estudios han analizado los efectos de la fertilización tardía sobre la composición proteica de los granos (o la calidad de la malta), sin relacionar estos cambios en el grano con los cambios en la calidad de la malta. En casi todos los casos, se trata de experimentos aislados en los que las observaciones no se han confirmado repitiendo los experimentos en varios sitios o años. En un experimento de campo realizado en China, Wang et al. (2007) observaron que la fertilización nitrogenada alrededor de la antesis aumentaba la concentración total de proteínas sin afectar a las proporciones de albúmina, globulina, prolamina (hordeína) y glutelina. Ajith et al. (2010), en tres ensayos de campo, observaron que el retraso en la aplicación simultánea de N, P y potasio al suelo no afectaba a las proporciones de hordeína B, C, D y γ . En cuanto al

efecto sobre la calidad de la malta, dos experimentos realizados en China mostraron que la fertilización nitrogenada disminuía el extracto de malta de forma similar si se fertilizaba en la fase de dos hojas o de vaina engrosada (Chen et al., 2006; Wang et al., 2007). En un trabajo realizado en Japón, la fertilización en la fase de vaina engrosada disminuyó el extracto de malta y la fermentabilidad (ALA), incluso en comparación con la misma dosis aplicada al principio del ciclo de cultivo (Nanamori et al., 2008). Por otra parte, en estudios realizados en Italia se observó que el retraso de la fertilización de 50 a 80 días después de la siembra no afectaba al extracto, pero disminuía la fermentabilidad (Marconi et al., 2011).

Los objetivos de este estudio fueron analizar los efectos de la fertilización nitrogenada en espigazón sobre (i) la concentración proteica y el tamaño de los granos, (ii) el extracto de malta, la ALA, la dureza de la malta y (iii) la composición de hordeínas de los granos y su relación con el extracto de malta. Las hipótesis a poner a prueba es que la fertilización nitrogenada en espigazón, dado que ocurre una vez finalizado el período crítico de determinación del número de granos (principal determinante del rendimiento), no modifica el rendimiento pero incrementa la cantidad de N en el grano modificando la concentración y el perfil de las hordeínas, características determinantes del extracto, la dureza y la ALA, por lo tanto (i) produce incrementos en la concentración proteica, (ii) no produce cambios en el rendimiento ni en el calibre; (iii) determina una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C; (iv) produce disminuciones en el extracto y en la ALA e incrementos en la dureza; (v) las disminuciones en el extracto están asociadas a una mayor concentración proteica de los granos y por una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1 Experimentos

Se realizaron 25 experimentos a campo para estudiar el efecto de la fertilización nitrogenada en espigazón y su interacción con la fertilización nitrogenada basal sobre la calidad de los granos de cebada cervecera en los mismos lotes y en forma simultánea que los experimentos descritos en el Capítulo 2. Las características del clima, el suelo y el manejo de ensayos, por lo tanto, son las descritas en el Cuadro 2-1 de ese capítulo. Todas las parcelas recibieron 20 kg de P ha⁻¹ en forma de superfosfato triple y 20 kg de S ha⁻¹ en forma de yeso antes de la siembra para evitar deficiencias de fosfato y S en el cultivo.

Los seis tratamientos empleados fueron la combinación de tres niveles de fertilización nitrogenada basal (en las primeras etapas del cultivo) y dos niveles de fertilización nitrogenada foliar en espigazón (0 y 20 kg N ha⁻¹, Ne0 y Ne1 respectivamente). La fertilización basal se realizó aplicando urea en cobertura total durante macollaje en los experimentos 1 a 10 y durante la siembra en los experimentos 11 a 25. Las dosis de N aplicadas variaron entre experimentos y fueron iguales a las dosis N1, N2 y N3 del Capítulo 2. Dado que el objetivo de esta investigación no era estudiar el efecto de la fertilización basal, sino estudiar el efecto de la fertilización en el momento de espigazón bajo las distintas dosis de fertilizante nitrogenado que suelen emplearse en los campos de los productores agropecuarios, no se incluyeron tratamientos sin fertilización basal. La fertilización foliar en espigazón se realizó mediante la pulverización de una solución de urea de bajo biuret.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones, excepto en los experimentos 14 a 19, en los que se utilizaron 4 bloques. Las parcelas tenían una longitud de 10 a 20 metros y un ancho de 2 a 4 metros.

5.2.2. Mediciones

En madurez comercial del cultivo (12% de humedad del grano), se cosechó un metro cuadrado de cada parcela y se trilló a mano. Utilizando estas muestras se determinó rendimiento, calibre y concentración proteica de los granos con la metodología descrita en el Capítulo 2.

La respuesta de la concentración de proteína del grano a la fertilización en espigazón ($CPG_{Ne1-Ne0}$) se calculó como la diferencia entre la concentración de proteína del grano de los tratamientos Ne1 y Ne0 en cada nivel de fertilización basal en cada experimento.

El N en grano por unidad de superficie se calculó multiplicando el rendimiento en grano (evaluado en base seca) y la concentración de N en grano. La eficiencia de recuperación aparente (ERA) del N aplicado en espigazón se calculó de la siguiente manera:

$$ERA \text{ (kg Ngrano kg Ne}^{-1}\text{)} = (Ngrano_Ne1 - Ngrano_Ne0) / 20$$

Donde $Ngrano_Ne1$ es el N en grano por unidad de superficie en las parcelas fertilizadas en espigazón y $Ngrano_Ne0$ es el N en grano por unidad de superficie en las parcelas no fertilizadas en espigazón.

En un subconjunto de cinco experimentos realizados en las localidades de Junín y Baigorrita (experimentos 14, 16, 17, 18 y 19), se evaluó la concentración y el tipo de hordeínas del grano y la calidad de la malta obtenida. Estas mediciones se realizaron únicamente en los tratamientos que recibieron el nivel intermedio de N basal (N2) con y

sin fertilización en espigazón. Con este fin, en madurez comercial se cosecharon las espigas de 2 m² de cada parcela que se trillaron en una trilladora estacionaria. Las determinaciones de concentración y el tipo de hordeínas y la calidad maltera se realizaron de la manera descrita en el Capítulo 4.

5.2.3. Análisis estadístico

Los datos se analizaron estadísticamente utilizando modelos lineales mixtos. Se empleó el paquete Lme4 del software R (Bates et al., 2015; R Core Team. 2019). El análisis de la varianza se realizó con el paquete lmerTest (Kuznetsova et al., 2017). En las variables que se evaluaron en todos los experimentos, se consideraron efectos fijos la fertilización nitrogenada basal, la fertilización nitrogenada en espigazón, el experimento y sus interacciones. Además de los bloques anidados en los experimentos, la interacción entre los experimentos, la fertilización nitrogenada basal y el bloque se consideraron factores aleatorios porque la fertilización nitrogenada basal es diferente en cada experimento. En las variables que se evaluaron en cinco experimentos, la fertilización nitrogenada en espigazón, el lugar y sus interacciones se consideraron efectos fijos para evaluar si los efectos de la fertilización nitrogenada en espigazón variaban entre experimentos

Se analizaron las relaciones entre los parámetros de calidad de la malta y la composición o el tamaño del grano. En este caso, los experimentos se consideraron efectos aleatorios. De este modo, se analizó la relación cuando estas características varían debido al efecto de la fertilización en espigazón, descartando la variación producida por los diferentes entornos asociados a los distintos experimentos. En un primer paso, se evaluó una sola variable independiente por modelo. En un segundo paso, se evaluó la adición de una segunda variable independiente al modelo de una

variable independiente que tenía el mejor coeficiente marginal de determinación (Nakagawa et al., 2017).

5.3. Resultados

5.3.1. Rendimiento en grano, tamaño y concentración de proteína

La fertilización nitrogenada en espigazón no afectó al rendimiento en grano (Cuadro 5-1 y Figura 5-1). Por el contrario, la fertilización basal aumentó moderadamente el rendimiento. En promedio, la diferencia entre los rendimientos obtenidos con la dosis máxima y mínima de fertilización fue de 147 kg ha⁻¹, equivalente al 3,9% del rendimiento de las parcelas que recibieron la dosis más baja. Se observaron grandes diferencias entre experimentos: desde una media de 1558 kg ha⁻¹ en el experimento 5 hasta 6641 kg ha⁻¹ en el experimento 11. El efecto de la fertilización basal no varió entre los experimentos (interacción fertilización nitrogenada basal x experimento no significativa).

Cuadro 5-1: Análisis de varianza (valores de *p*) del rendimiento en grano, el calibre, la concentración de proteína del grano y la eficiencia aparente de recuperación de N.

Variable	Efecto (valor <i>p</i>)						
	Ne	Nb	Exp	NexNb	NexExp	NbxExp	NexNbxExp
Rendimiento	ns	0,02	0,04	ns	ns	ns	ns
Calibre	ns	<0,01	<0,01	ns	ns	ns	ns
Concentración de proteínas del grano	<0,01	<0,01	<0,01	ns	ns	0,01	ns
Eficiencia aparente de recuperación de N	----	ns	ns	---	---	ns	---

Ne: fertilización nitrogenada en espigazón; Nb: fertilización nitrogenada basal; Exp: experimento; ns: $p > 0,05$

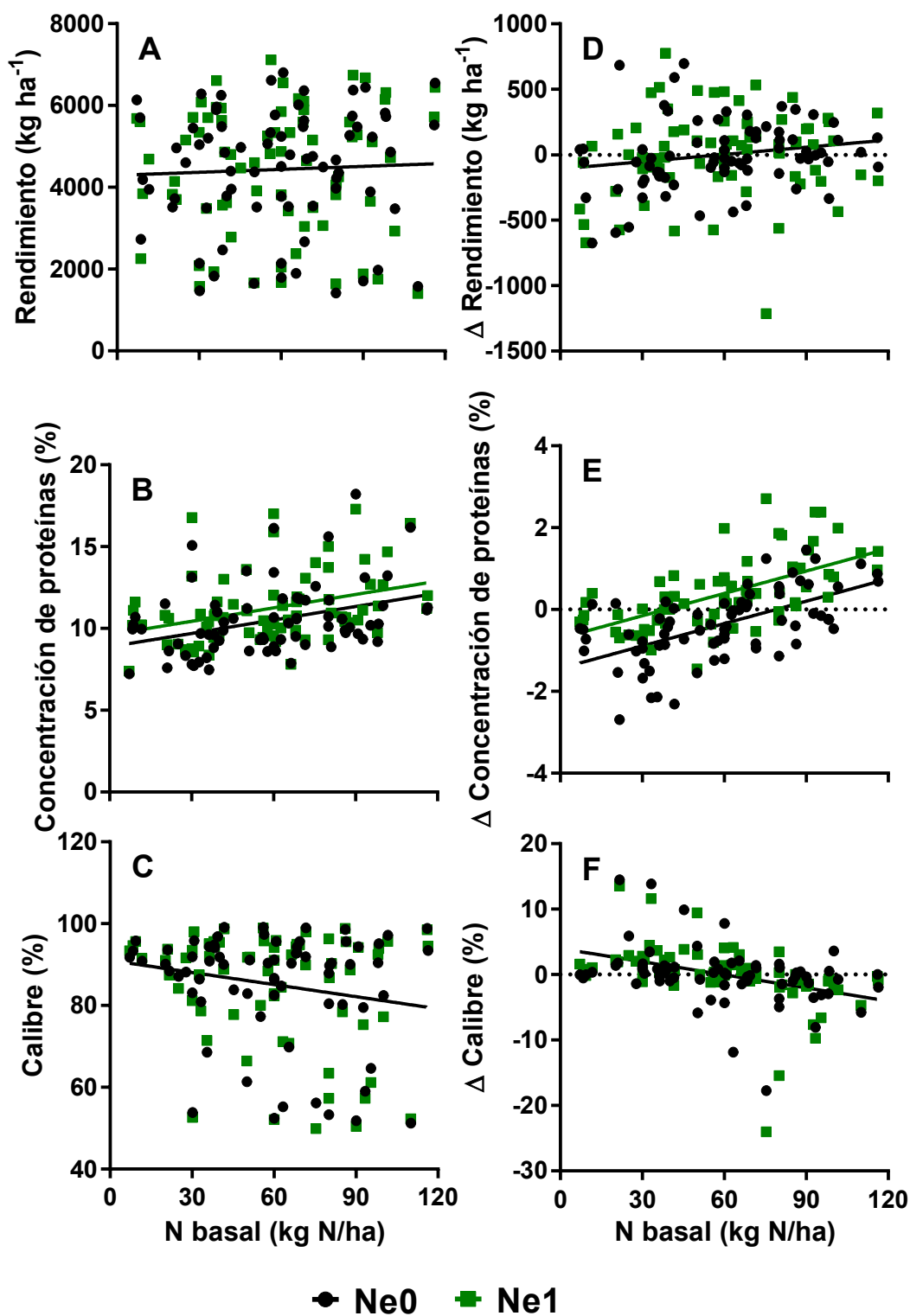


Figura 5-1: Relación entre el rendimiento en grano (A), la concentración de proteína (B), el calibre (C), el Δ rendimiento en grano (D), el Δ concentración de proteína (E) y el Δ calibre (F) y la dosis de fertilización nitrogenada basal. Δ es la diferencia entre la media de un tratamiento en un experimento y la media de todos los tratamientos de ese experimento. Se utilizó un modelo de dos líneas (gráficos B y E) cuando el efecto de la fertilización nitrogenada en espigazón fue significativo.

El calibre tampoco se vio afectado por la fertilización nitrogenada en espigazón (Cuadro 5-1 y Figura 5-1). La fertilización basal disminuyó moderadamente el calibre. Por término medio, la diferencia entre el calibre obtenido con la dosis de fertilización máxima y mínima fue del 5%. El calibre varió mucho de un sitio a otro, desde un valor de 57% en el sitio 5 al 98% en el sitio 8. El efecto de la fertilización basal no varió entre los experimentos (interacción fertilización nitrogenada basal x experimento no significativa).

La fertilización nitrogenada en espigazón aumentó la concentración de proteína del grano en un promedio de 0,73% (Cuadro 5-1 y Figura 5-1). Por cada kilogramo de N aplicado, la concentración de proteína del grano aumentó un 0,039% cuando se promediaron todos los niveles de N basal. El efecto de la fertilización en espigazón no varió entre experimentos ni entre niveles de fertilización basal (interacciones fertilización nitrogenada en espigazón x fertilización nitrogenada basal y fertilización nitrogenada en espigazón x experimento no significativas). La respuesta de la concentración de proteína del grano a la fertilización en espigazón disminuyó ligeramente a medida que aumentaba la disponibilidad de N en el suelo en el momento de la siembra (Ec. 5-1). La fertilización nitrogenada basal aumentó la concentración proteica de los granos, pero la magnitud del efecto dependió del experimento (interacción significativa fertilización nitrogenada basal x experimento, Cuadro 5-1). Por ejemplo, en los experimentos 2 y 4 la fertilización basal aumentó la concentración proteica de los granos en más de un 3% de media, mientras que en los experimentos 9, 20 y 24 el aumento fue inferior al 0,5%.

$$CPG_{N_{e1}-N_{e0}} = 1,702 - 0,01717 N_{suelo} \quad [\text{ecuación 5-1}]$$

$$R^2 \text{ marginal} = 0,051; R^2 \text{ condicional} = 0,48$$

donde $CPG_{N_{e1}-N_{e0}}$ es el aumento de la concentración de proteína del grano debido al efecto de la fertilización nitrogenada en espigazón (%) y N_{suelo} es el N como nitrato en el suelo en la profundidad de 0 a 60 cm (kg N ha^{-1}).

La eficiencia aparente de recuperación de la fertilización nitrogenada en el momento de espigazón fue, en promedio, del 29,7%. Esto implica que por cada 20 kg ha^{-1} de N aplicado como fertilizante en espigazón, el N del grano por unidad de superficie aumentó $6,9 \text{ kg ha}^{-1}$. Esta eficiencia no varió entre sitios ni entre niveles de fertilización nitrogenada basal (efectos no significativos del sitio y de la fertilización nitrogenada basal, Cuadro 5-1).

5.3.2. Hordeína del grano

La fertilización nitrogenada en espigazón aumentó la concentración de hordeína total del grano en un 9,2% (Cuadro 5-2 y figura 5-2). Además, esta fertilización afectó a la composición de la hordeína. Los granos del tratamiento que recibió fertilización nitrogenada en el momento de espigazón presentaron una reducción media del 1,6% de hordeína B (rica en S), y un aumento del 1,8% de hordeína C (pobre en S). Por lo tanto, la relación entre las hordeínas B y C disminuyó en un 18%. Las fracciones más pequeñas de hordeínas D y γ no se vieron afectadas por esta fertilización.

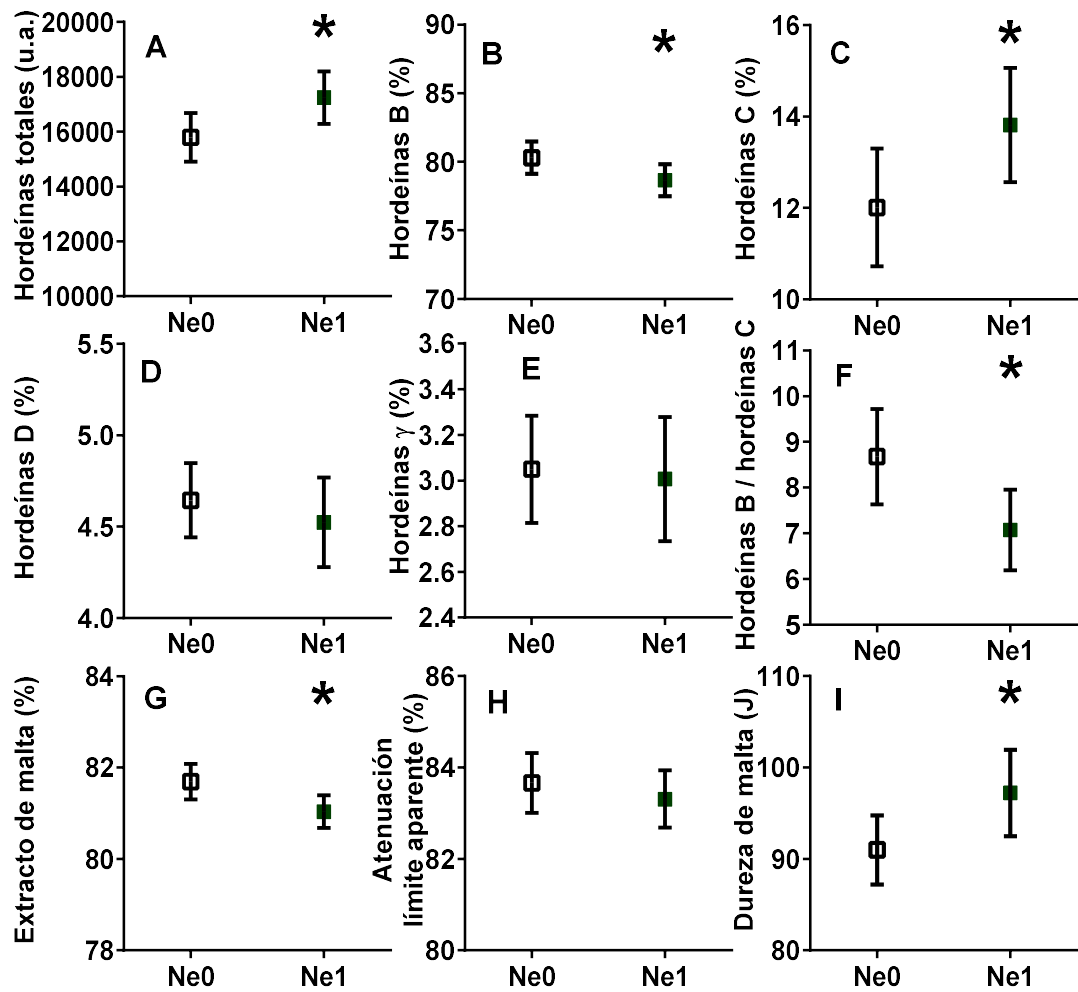


Figura 5-2 Hordeínas total (A), hordeínas B (B), hordeínas C, (C), hordeínas D (D), hordeínas γ (E), hordeínas B/hordeínas C (E), extracto de malta (F), ALA (H) y dureza de la malta en cultivos de cebada sin (Nh0) y con (Nh1) fertilización nitrogenada en espigazón. Cada punto es la media de 20 observaciones, las barras verticales indican los errores estándar, y el asterisco indica que el efecto de la fertilización nitrogenada en espigazón es significativo.

Cuadro 5-2: Análisis de varianza (valores de p) de la concentración total de hordeínas, la proporción de las fracciones de hordeínas y los parámetros de calidad de malta.

Variable	Efecto (valor p)		
	Ne	Exp	Ne x Exp
Hordeínas:			
Hordeínas totales	0,04	<0,01	ns
Hordeínas B	0,08	<0,01	ns
Hordeínas C	0,03	<0,01	ns
Hordeínas D	ns	<0,01	ns
Hordeínas γ	ns	<0,01	ns
Relación B/C	0,02	<0,01	ns
Calidad de malta:			
Extracto de malta	0,03	<0,01	ns
Atenuación limite aparente	ns	<0,01	ns
Dureza de malta	<0,01	<0,01	ns

Ne: fertilización nitrogenada en espigazón; Exp: experimento ns: $p > 0,10$

Al igual que la concentración total de proteínas de los granos, tanto la concentración como la composición de las hordeínas variaron mucho entre los experimentos (Cuadro 5-2). Comparando los casos extremos, en promedio, los granos del experimento 14 tuvieron una concentración de hordeína de 11422 ± 409 UA (media \pm SE) con una relación B/C de $14,0 \pm 0,74$ mientras que en el experimento 19 tuvieron una concentración de hordeína de 21389 ± 986 UA y una relación B/C de $4,0 \pm 0,27$. El efecto de la fertilización nitrogenada en espigazón fue similar en todos los experimentos (la interacción fertilización nitrogenada en espigazón x experimento no fue significativa).

5.3.3. Parámetros de calidad de la malta y su relación con el tamaño y la composición del grano

La fertilización nitrogenada en espigazón disminuyó el extracto de malta en un 0,8% y aumentó la dureza de la malta en un 6,8% en promedio de todos los experimentos (Cuadro 5-2 y Figura 5-2). En cambio, la ALA no se vio afectado por la fertilización nitrogenada en espigazón. Estos tres parámetros de la calidad de la malta variaron entre los experimentos. Los valores más altos de extracto de malta ($83,6 \pm 0,18$) y de límite aparente de atenuación ($85,7 \pm 0,54$) se dieron en el experimento 14, mientras que los valores más bajos de extracto de malta ($79,2 \pm 0,33$) y de límite aparente de atenuación ($79,9 \pm 0,43$) se dieron en el experimento 19. El valor medio más alto de la dureza de la malta se registró en el experimento 18 ($122,7 \pm 4,37$), mientras que el más bajo se registró en el experimento 14 ($75,8 \pm 5,62$).

La relación entre los cambios en el extracto de malta producidos por la fertilización nitrogenada en espigazón y diversas características de los granos de cebada se estudió mediante regresiones utilizando modelos mixtos en los que el experimento se consideró una variable aleatoria. Según el criterio de información de Akaike (AIC), los modelos que incluían la concentración de proteína del grano y la concentración total de hordeína fueron los mejores modelos con una sola variable independiente fija (Cuadro 5-3. modelos 1 y 2). La concentración de proteína del grano y la concentración total de hordeína se relacionaron negativamente con el extracto. Considerando el coeficiente de ajuste marginal (R^2_m) que describe la proporción de varianza explicada por el factor fijo, la concentración total de hordeína presentó una asociación más estrecha con el extracto que la concentración de proteína del grano. La inclusión del tratamiento de fertilización nitrogenada en espigazón como segunda variable independiente en

cualquiera de estos dos modelos no mejoró significativamente el ajuste del modelo. Esto indica que la relación entre estas dos variables (es decir, la hordeína total y la concentración de proteína del grano) y el extracto de malta puede describirse mediante la misma función para ambos tratamientos, Ne0 y Ne1 (Figura 5-3).

Cuadro 5-3: Modelos explicativos del extracto de malta

N	Modelo	R ² m	R ² c	AIC
1	Extracto = 91,74 – 0,9703 Prot	0,464	0,918	84,7
2	Extracto = 86,6 – 0,0003219 Hor	0,649	0,803	93,7
3	Extracto = 63,18 + 0,2279 HorB	0,406	0,942	100,9
4	Extracto = 84,30 -0,2333 HorC	0,460	0,953	98,7
5	Extracto = 79,46 + 0,2384 B/C	0,377	0,881	108,0
6	Extracto = 86,11 - 0,9359 Prot + 0,06145 Cal	0,668	0,918	82,4
7	Extracto = 81,79 – 0,0003388 Hor + 0,0593 Cal	0,839	0,840	85,2

Extracto: extracto de malta (%); Prot: concentración de proteínas del grano (%); Hor: concentración total de hordeínas del grano (u.a., unidades arbitrarias); Cal: calibre (%); HorB: proporción de hordeínas B (%); HorC: proporción de hordeínas C (%); B/C: relación entre hordeínas B y hordeínas C; HorD: proporción de hordeínas D (%); R²m: coeficiente de determinación marginal; R²c: coeficiente de determinación condicional; AIC: criterio de información de Akaike.

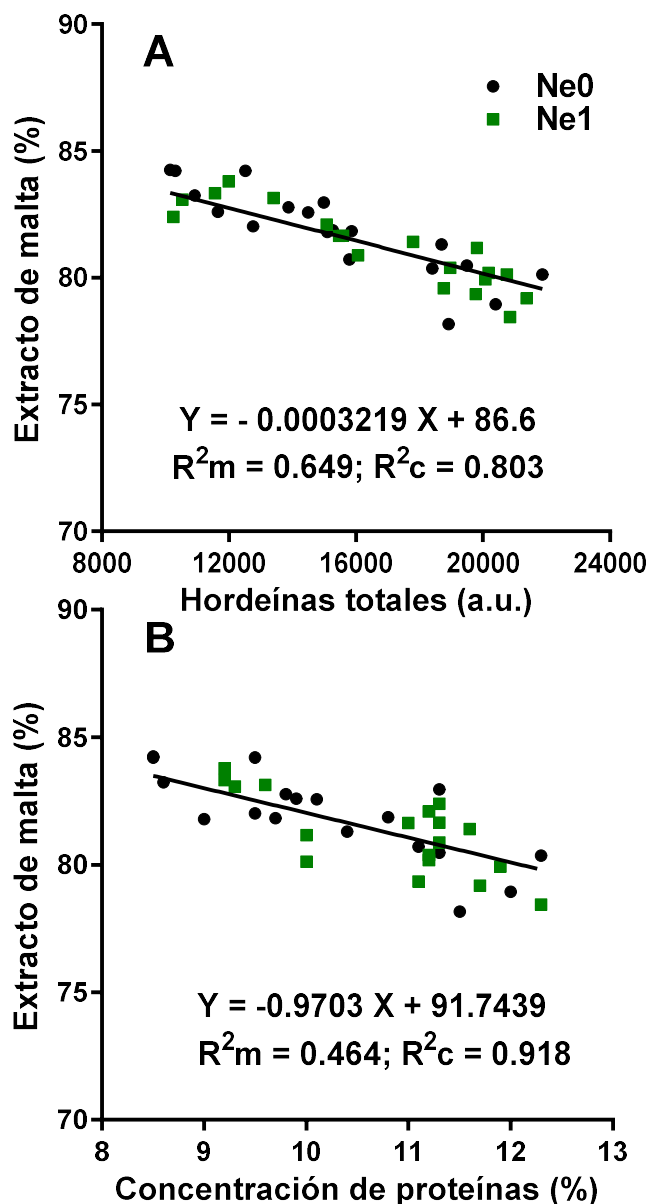


Figura 5-3: Relación entre el extracto de malta y (A) la concentración total de hordeína de los granos (u.a.) y (B) la concentración de proteína del grano (%). R^2m es el coeficiente de determinación marginal y R^2c es el coeficiente de determinación condicional

Otros modelos significativos de una sola variable independiente fueron el porcentaje de hordeína B, el porcentaje de hordeína C o la relación entre estas dos fracciones de hordeína (Cuadro 5-3, modelos 3, 4 y 5). Sin embargo, el ajuste de estos tres modelos fue inferior al de los modelos que incluían la concentración de proteína del grano o la concentración total de hordeína. La inclusión del calibre como segunda variable

independiente mejoró el ajuste de los modelos que incluían la concentración de proteína del grano o la concentración total de hordeína como única variable (Cuadro 5-3, modelos 6 y 7). Ninguna otra variable medida en este trabajo mejoró significativamente estos modelos de dos variables independientes.

5.4. Discusión

5.4.1. Aspectos agronómicos

Este trabajo confirma que la fertilización foliar en espigazón es una práctica eficaz para aumentar la concentración de proteína de los granos de cebada, como también se ha observado en trigo y cebada (Gooding y Davies, 1992; Bulman y Smith, 1993). De acuerdo a los resultados presentados en el Capítulo 2, la concentración de proteína del grano aumentó en un 0,028% por cada kilogramo de N aplicado en la siembra o en el macollaje mientras que la fertilización foliar en espigazón aumentó la proteína del grano en un 0,039% por cada kilogramo de N aplicado. Además, la decisión de fertilizar en espigazón se toma cuando ya ha pasado una parte importante del ciclo del cultivo, lo que permite estimar mejor el rendimiento y, por tanto, la concentración en proteína de los granos. Por lo tanto, la fertilización en espigazón es una herramienta útil para complementar la fertilización basal en aquellos años en los que se espera que el cultivo tenga un rendimiento superior a la media. Esto es particularmente útil en aquellas regiones donde los cultivos tienden a producir granos con baja concentración de proteína, como la región pampeana o Australia Occidental.

La eficiencia aparente de la fertilización observada en este trabajo está dentro del amplio rango observado en el trigo (Wuest y Cassman, 1992; Gooding et al., 2007). Los valores relativamente bajos de eficiencia son característicos de cultivos que no sufrieron deficiencias de N severas previas a antesis (Triboi y Triboi-Bondel, 2002). El uso de la

fertilización en el momento de espigazón no alteró el rendimiento de los granos, en concordancia con Gooding y Davies (1992) quienes afirmaron que la fertilización nitrogenada después de la emergencia de la hoja bandera generalmente no afectaba el rendimiento. Esta falta de efecto se debe probablemente a la aplicación de N cuando el período crítico para la determinación del número de granos (el principal componente del rendimiento en los cereales de invierno) está terminando (Arisnabarreta y Miralles, 2008). Aunque la fertilización nitrogenada al principio del ciclo del cultivo suele provocar una disminución del tamaño del grano como ha sido demostrado en el capítulo 2, la fertilización en espigazón no lo hizo. El tamaño de los granos disminuye debido a la fertilización nitrogenada, ya que los aumentos de rendimiento suelen estar asociados a un incremento del número de granos pequeños situados en el extremo de la espiga principal y en las espigas de los macollos (Ellis y Marshall, 1998). En consecuencia, la falta de efecto de la fertilización en espigazón sobre el tamaño del grano puede interpretarse como una consecuencia de su falta de efecto sobre el rendimiento.

Al contrario que lo observado por Gooding y Davies (1992), la fertilización basal no afectó a la respuesta de la concentración en proteína del grano a la fertilización foliar. Esto se debe probablemente a que la deficiencia de N en los tratamientos que recibieron la dosis más baja de N basal fue moderada (la diferencia media de rendimiento en grano entre los niveles de fertilización basal fue del 3,9%).

5.4.2. Calidad de la malta y sus determinantes

La fertilización en el momento de espigazón aumentó la concentración total de hordeínas, tal como lo describen Ajith et al. (2010). Además, la fertilización en espigazón afectó a su composición: disminuyó la proporción de hordeínas B, aumentó la proporción de hordeínas C y no afectó a la proporción de hordeínas D y γ . En el capítulo

4 se observó que la fertilización nitrogenada basal disminuye la proporción de componentes ricos en S (hordeínas B y γ), aumenta los componentes pobres en S (hordeínas C) y no afecta a las hordeínas D de alto Mr. Por lo tanto, los efectos de la fertilización nitrogenada en espigazón sobre la concentración y la composición de las hordeínas fueron en gran medida similares a los observados en el capítulo 4 debido a la fertilización nitrogenada basal. La principal diferencia fue que la fertilización en espigazón no afectó a la concentración de hordeínas γ .

La fertilización nitrogenada en el momento de espigazón disminuyó el extracto de malta, lo que confirma lo observado en tres informes de experimentos realizados en un solo sitio cada uno (Chen et al., 2006; Wang et al., 2007; Nanamori et al., 2008). La fertilización en espigazón aumentó la dureza de la malta. Esto no había sido informado en trabajos científicos previos, aunque en los resultados del capítulo 4 se observa que, la fertilización nitrogenada basal aumentó la dureza de la malta. El aumento de la dureza de la malta debido a la fertilización nitrogenada en espigazón indica una disminución de la modificación física del grano durante el proceso de malteado. Del mismo modo, Nanamori et al. (2008) observaron que la fertilización nitrogenada en la fase de vaina engrosada disminuía la friabilidad, lo que reflejaba el grado de modificación física del grano. Contrariamente a otras observaciones en las que se evaluaron los efectos de la fertilización nitrogenada basal, la fertilización nitrogenada en espigazón no afectó a la fermentabilidad evaluada mediante la atenuación del límite aparente. Nanamori et al. (2008) observaron cambios en la atenuación del límite aparente producidos por la fertilización nitrogenada en vaina engrosada, pero en uno de los dos cultivares evaluados y sólo si se había fertilizado previamente con una dosis baja de N basal, lo que sugiere que no es un efecto generalizado.

Los modelos que mejor explican las variaciones del extracto de malta producidas por la fertilización nitrogenada en espigazón son los que incluyen la concentración de proteína del grano o de hordeína total a los que se añade el tamaño del grano como segunda variable. Esto concuerda con las observaciones del capítulo 4 en las que las variaciones en el extracto de malta fueron generadas por diferentes ambientes y por la fertilización nitrogenada basal. Considerando que el tamaño del grano es un indicador del peso del mismo tal como ha sido demostrado en el capítulo 2, esto coincide con el modelo clásico propuesto por Bishop (1930a). Es interesante observar que ninguno de estos modelos incluye las fracciones en las que se dividen las hordeínas. Estos resultados sugieren que el fraccionamiento clásico de las hordeínas no es relevante para la determinación del extracto de malta cuando las variaciones están determinadas por la fertilización nitrogenada en espigazón.

La fertilización nitrogenada en espigazón es una herramienta eficaz para incrementar la concentración proteica de los granos en lotes en los que se estima que estarán por debajo del mínimo requerido para elaborar malta pero determinará las disminuciones de extracto y el incremento en la dureza que se asocian con dicho incremento en la concentración de las proteínas.

En conclusión, a partir de una red de experimentos repetidos en diferentes ambientes, se observó que los efectos de la fertilización nitrogenada en espigazón producen cambios en la calidad maltera de los granos de cebada que no son cualitativamente diferentes de los producidos por la fertilización nitrogenada basal del cultivo.

CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

En esta tesis se estudió el efecto de dos nutrientes particulares sobre el cultivo de cebada: el N y el S. Estos dos nutrientes comparten una característica importante: son los dos únicos que forman parte de las moléculas de las proteínas. En el cultivo de cebada, las características de las proteínas del grano son de particular importancia ya que determinan distintos atributos de la calidad industrial: por un lado las hordeínas limitan la actividad de las enzimas amilolíticas sobre los gránulos de almidón durante la maceración restringiendo el rendimiento industrial de la malta (disminuye el extracto) (Rani y Bhardwaj, 2021; Slack et al., 1979), y por otro lado las enzimas que catalizan la hidrólisis del almidón, de otros hidratos de carbono estructurales como los beta glucanos, de las hordeínas, etc., también son proteínas. Dada la relevancia de estos dos nutrientes en el cultivo de la cebada, en esta tesis se abordó el estudio de su efecto sobre algunas características que determinan la producción de los cultivos y la calidad del cereal obtenido a distintas escalas. Diversos aspectos relacionados a los efectos del N han sido estudiados previamente en forma frecuente mientras que los efectos del S, tanto en la escala de cultivo y sobre la calidad industrial han sido mucho menos abordados. En las figuras 6-1 y 6-2 se puede apreciar una síntesis gráfica de los efectos de las deficiencias de estos nutrientes sobre los procesos estudiados en esta tesis.

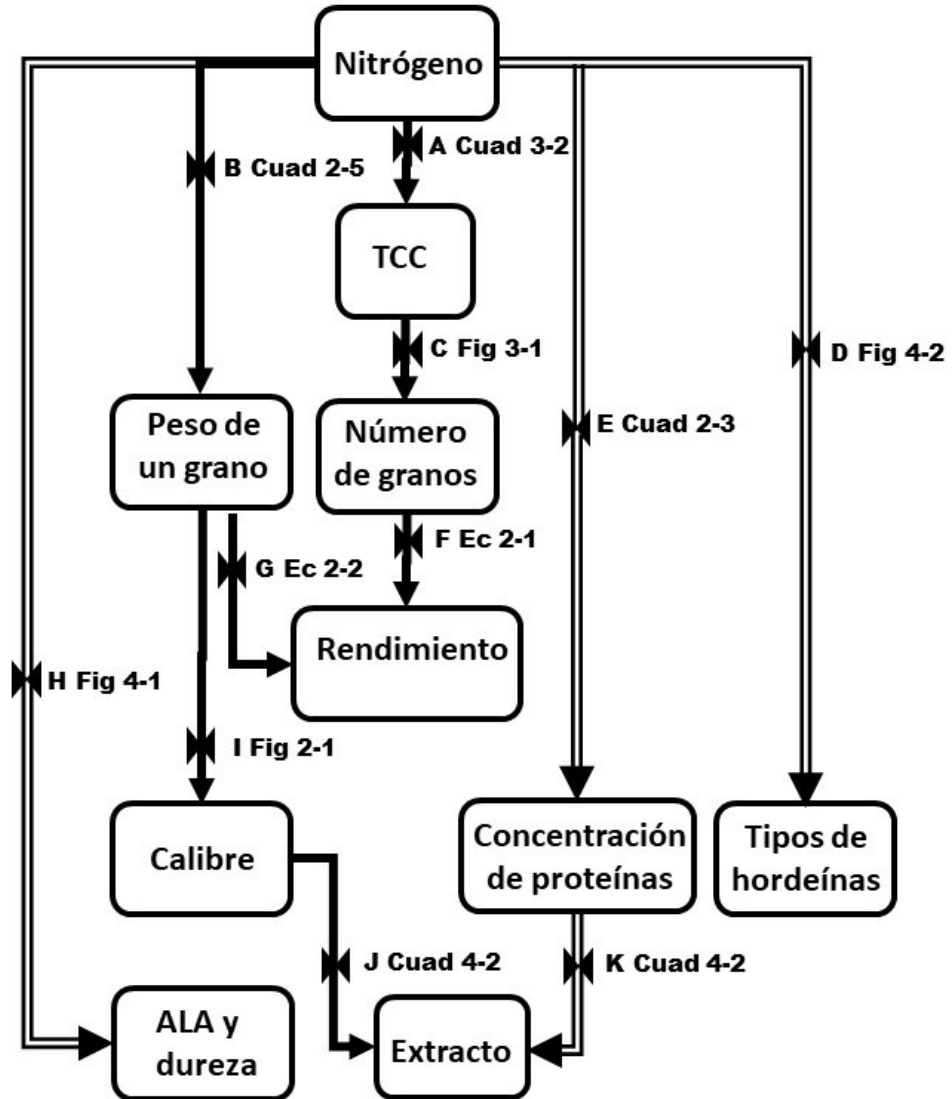


Figura 6-1: Esquema conceptual de los efectos del nitrógeno sobre los procesos estudiados en esta tesis. Las flechas representan efectos o correlaciones significativas. Las flechas con líneas simples indican efectos de la fertilización basal, las flechas con líneas dobles indican efectos de la fertilización basal y en espigazón. En cada flecha se indica una letra que se utiliza como referencia y la figura (Fig), cuadro (Cuad) o ecuación (Ec) de la tesis donde mejor se encuentra representado ese efecto o correlación.

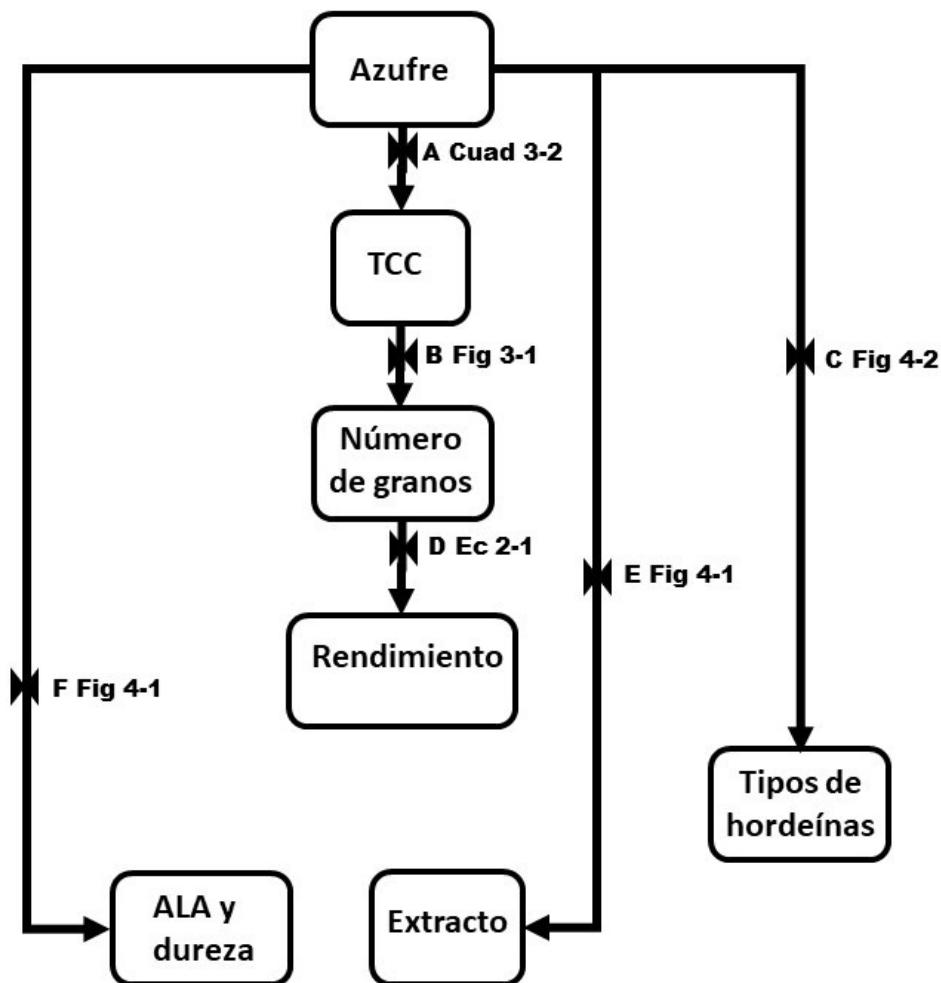


Figura 6-2: Esquema conceptual de los efectos del azufre sobre los procesos estudiados en esta tesis. Las flechas representan efectos o correlaciones significativas. En cada flecha se indica una letra que se utiliza como referencia y la figura (Fig), cuadro (Cuad) o ecuación (Ec) de la tesis donde mejor se encuentra representado ese efecto o correlación.

En los Capítulos 2 y 5 se analizaron los efectos de la fertilización nitrogenada a nivel de cultivo sobre el rendimiento y la calidad comercial (es decir aquellas características del grano que son evaluadas durante la comercialización del grano) en dos momentos muy distintos: en las primeras etapas del cultivo (entre siembra y emergencia) y durante espigazón (Figs. 6-1 A, B, C, E, F, G, I). Si bien otros estudios han abordado esta escala a nivel internacional, nuestro país tiene una característica que

comparte con pocas zonas productoras del mundo (como el oeste de Australia): en estos sistemas, el problema que típicamente debe abordar el productor es que existe un gran riesgo de que el nivel de proteínas que se obtiene en los cultivos comerciales se encuentre por debajo del mínimo requerido por la industria, cuando en gran parte de la regiones productoras del mundo el riesgo es que la cebada obtenida tenga un exceso de proteínas (Paynter y Fettel, 2011). Por lo tanto, los problemas a resolver en los sistemas productivos de nuestro país no siempre son compartidas por otras regiones donde realizan sus investigaciones gran parte de los científicos dedicados a este tema.

El Capítulo 3 tiene una escala de observación más pequeña: se estudian aspectos ecofisiológicos de la determinación del rendimiento en este cultivo (Figuras. 6-1 A, C; 6-2 A, B). Esto ha sido abordado en distintos trabajos donde se han estudiado los efectos de la deficiencia de N, aunque seguramente quedan aspectos por esclarecer (Fischer, 1993; Demotes-Mainard et al., 1999; Demotes-Mainard y Jeuffroy, 2004; Arisnabarreta y Miralles, 2010; Ferrante et al., 2012; Arisnabarreta y Miralles, 2015). En cambio, cómo afecta la deficiencia de S a la determinación del número de granos y, por lo tanto, al rendimiento no ha sido estudiado en cereales de invierno (trigo, cebada, avena, etc.). Es por ello que en este capítulo se decidió centrar la atención en el S.

Por último, en los Capítulos 4 y 5 se abordan los efectos de la fertilización azufrada y nitrogenada sobre aspectos claves de la calidad industrial como el rendimiento industrial (el extracto de malta), la fermentabilidad (a través de la ALA) y la modificación estructural del grano durante el malteo (a través del estudio de la dureza de la malta) y se relacionó lo observado con las características de las hordeínas de reserva de la malta (Figs. 6-1 B, D, E, H, I, J, K; 6-2 C, E, F). Si bien los efectos del N sobre estos atributos han sido muy estudiados, aún no se ha determinado claramente qué

características del grano regulan la respuesta de la calidad a la fertilización nitrogenada. Los efectos de la disponibilidad del S, en cambio, han sido estudiados previamente un muy pocos trabajos (Holopainen et al., 2015; Zhao et al., 2006).

6.1. Contrastación de las hipótesis

6.1.1. Capítulo 2

La respuesta a la fertilización nitrogenada (tanto en términos de rendimiento como de proteínas o calibre) está modulada por el ambiente: aquellos factores que incrementan el rendimiento aumentan la respuesta, aquellos factores que incrementen la disponibilidad de N para el cultivo la disminuyen. La inclusión de variables climáticas, edafológicas y de manejo mejoran la capacidad explicativa de la respuesta del rendimiento, la concentración proteica y el calibre de los granos a la fertilización nitrogenada respecto de los modelos que sólo incluyen la disponibilidad de N inicial y/o la dosis de fertilización nitrogenada como variables explicativas. En particular se espera que las precipitaciones durante el ciclo del cultivo incrementen las respuestas mientras que el contenido de materia orgánica del suelo las disminuyan.

Esta hipótesis ha sido corroborada. La respuesta del rendimiento a la fertilización nitrogenada estuvo muy débilmente relacionada con la dosis de N ($p=0,05$; $R^2 = 0,054$) y no estuvo relacionada con la concentración de nitrato del suelo al momento de la siembra. Cuando se tuvieron en cuenta otras variables ambientales (materia orgánica del suelo, tipo de suelo, temperatura media durante el ciclo del cultivo, precipitaciones durante todo el ciclo) se obtuvo un modelo que explicó con mucho mejor ajuste las variaciones en la respuesta del rendimiento ($p=0,01$; $R^2 = 0,392$) Se confirmó la relevancia de las precipitaciones durante todo el ciclo y del

contenido de materia orgánica del suelo y, además, resultaron relevantes el tipo de suelo y la temperatura media durante el ciclo del cultivo. De manera similar, la inclusión de la latitud de la locación en donde se realizó el experimento mejoró el ajuste del modelo de respuesta de la concentración proteica respecto al modelo que sólo incluye la disponibilidad inicial de N y la dosis de fertilización nitrogenada. La respuesta del calibre a la fertilización nitrogenada no se relacionó con ninguna de las variables ambientales medidas en este estudio.

6.1.2. Capítulo 3

Las fertilizaciones azufradas y nitrogenadas incrementan la acumulación de biomasa a lo largo del ciclo del cultivo pero los efectos más importantes sobre el número de granos ocurren porque incrementan el crecimiento durante el período previo a espigazón conocido como el período crítico. Los efectos del S, el N y su interacción sobre el número de granos por unidad de superficie se asocian positivamente con los cambios en la TCC y en el cociente fototérmico durante el período crítico.

Esta hipótesis ha sido corroborada. Se observó una asociación del número de granos con la TCC y con el cociente fototérmico durante el periodo crítico a) cuando se analizaron los datos sin modificar, b) cuando se eliminó la variación relacionada con los diferentes experimentos y sólo se consideró la variación relacionada con los tratamientos, c) cuando sólo se consideró la variación debida a la fertilización azufrada, y d) cuando sólo se consideró la variación debida a la fertilización nitrogenada.

6.1.3. Capítulo 4

El extracto de malta está determinado, entre otras características, por la concentración proteico de los granos que disminuye por efectos de deficiencias nitrogenada y por la abundancia de las hordeínas B y γ (ricas en S) cuya concentración disminuye con la deficiencia de S. Por lo tanto, las deficiencias moderadas de S determinan una disminución en el extracto de malta debido a la disminución de las fracciones B y γ (ricas en este elemento) y de la relación entre las fracciones B/C, mientras que las deficiencias de N lo aumentan debido a la disminución de la concentración proteica total de los granos.

Esta hipótesis ha sido parcialmente corroborada. Las deficiencias de S determinaron una disminución del extracto de malta mientras que las deficiencias de N determinaron un incremento de este. El extracto de malta en general se correlacionó positivamente con la proporción de hordeínas B, hordeínas γ y la relación B/C y negativamente con la concentración de proteínas. La proporción de las dos fracciones principales de hordeínas (B y C) se vio afectada por la fertilización nitrogenada y azufrada. La fertilización nitrogenada disminuyó la proporción de hordeínas B y aumentó la de hordeínas C en todos los experimentos. Por lo contrario, la fertilización azufrada aumentó las hordeínas B y disminuyó las C, pero este efecto de S sólo se observó en los tres experimentos de Junín. La relación entre las hordeínas B y C disminuyó debido a la fertilización nitrogenada en todos los experimentos. La fertilización con S no afectó a la proporción de hordeínas B/C como fue propuesto en la hipótesis. La fertilización nitrogenada disminuyó la proporción de hordeínas γ y la fertilización azufrada la aumentó en algunos experimentos.

Los granos de cebada producen malta con mayor extracto cuanto mayor es su concentración de S debido al incremento en las fracciones de hordeínas ricas en este elemento que han sido asociadas a mayores valores de extracto.

Esta hipótesis no ha sido corroborada. Por lo contrario, los granos con mayor concentración de S tuvieron un menor extracto. La concentración de S no se asoció al porcentaje de hordeínas B o C ni a la relación B/C. En cambio, la variable que reflejó los cambios en la proporción de hordeínas ricas y pobre en S fue la relación entre las concentraciones de N y S que se relacionó en forma positiva con el extracto de malta.

6.1.4 Capítulo 5

La fertilización nitrogenada en espigazón, dado que ocurre una vez finalizado el período crítico de determinación del número de granos (principal determinante del rendimiento), no modifica el rendimiento pero incrementa la cantidad de N en el grano modificando la concentración y el perfil de las hordeínas, características determinantes del extracto, la dureza y la ALA, por lo tanto (i) produce incrementos en la concentración proteica, (ii) no produce cambios en el rendimiento ni en el calibre; (iii) determina una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C; (iv) produce disminuciones en el extracto y en la ALA e incrementos en la dureza; (v) las disminuciones en el extracto están asociadas a una mayor concentración proteica de los granos y por una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C.

Esta predicción ha sido parcialmente corroborada. La fertilización nitrogenada en espigazón incrementó la concentración proteica de los granos en un promedio de 0,73%, pero este efecto no varió entre niveles de fertilización basal. La respuesta de la

concentración de proteína del grano a la fertilización en espigazón disminuyó ligeramente a medida que aumentaba la disponibilidad de N en el suelo en el momento de la siembra.

La fertilización nitrogenada en espigazón... (ii) no produce cambios en el rendimiento ni en el calibre

Esta predicción ha sido corroborada. La fertilización nitrogenada en espigazón no afectó ni al rendimiento ni al calibre del grano

La fertilización nitrogenada en espigazón...(iii) determina una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C

Esta predicción ha sido corroborada. Los granos del tratamiento que recibió fertilización nitrogenada en el momento de espigazón presentaron una reducción media del 1,6% de hordeína B (rica en S), y un aumento del 1,8% de hordeína C (pobre en S). Por lo tanto, la relación entre las hordeínas B y C disminuyó en un 18%.

La fertilización nitrogenada en espigazón... (iv) produce disminuciones en el extracto y en la ALA e incrementos en la dureza

Esta predicción ha sido parcialmente corroborada. La fertilización nitrogenada en espigazón produjo disminuciones en el extracto e incrementos en la dureza, pero no afectó la ALA

(v) las disminuciones en el extracto están asociadas a una mayor concentración proteica de los granos y por una menor proporción de hordeínas B o una menor relación entre las hordeínas B y las hordeínas C

Esta predicción ha sido parcialmente corroborada. La fertilización nitrogenada en espigazón incrementó la concentración proteica y disminuyó el extracto. Ambas variables estaban fuertemente correlacionadas. El extracto también estuvo correlacionado con la concentración de hordeína B y con la relación entre las hordeínas B/C, pero en forma menos estrecha que con la concentración proteica. La inclusión de la concentración de hordeína B o de la relación entre las hordeínas B/C como segunda variable independiente a los modelos que incluían la concentración de proteína del grano como única variable no mejoró el ajuste, sugiriendo que la correlación entre la concentración de hordeína B o la relación entre las hordeínas B/C con la concentración de proteínas es sólo una consecuencia de que las tres variables explicativas (proteínas totales, hordeína B y relación B/C) están correlacionadas entre sí.

6.2. Conclusiones

6.2.1. Aportes originales al conocimiento científico

I. Las disminuciones en el número de granos por unidad de superficie en respuesta a la deficiencia azufrada en los cultivos de cebada están asociadas con los cambios en la TCC durante el período crítico y con el cociente fototérmico durante este período (Figs. 3-1; 3-3; 6-2 B). No conozco trabajos previos que hayan corroborado esta relación en cereales de invierno sometidos a deficiencias de S. Este marco teórico fue desarrollado estudiando variaciones en la radiación y/o la temperatura en cultivos de trigo (Fischer, 1958; Savin y Slafer, 1991) y luego en otros cultivos incluyendo a la cebada (Arisnabarreta y Miralles, 2008) y corroborada en cultivos sujetos a deficiencias de N (Fischer, 1993; Demotes-Mainard et al., 1999, 2004; Arisnabarreta y Miralles, 2010, 2015; Ferrante et al., 2012) y de P (Lázaro y Abbate, 2011). Las observaciones

presentadas en esta tesis contrastan con informes anteriores en cultivos de maíz y soja sujetos a deficiencias en S (Gutiérrez Boem et al., 2007; Salvagiotti et al., 2017).

II. Las fertilizaciones azufrada y nitrogenada alteraron la composición de las hordeínas en cultivos a campo bajo deficiencias moderadas de ambos nutrientes: la fertilización azufrada incrementó la proporción de hordeínas B y γ y la relación entre las hordeínas B y C y disminuyó la proporción de hordeínas C, mientras que la fertilización nitrogenada (tanto a la siembra como en espigazón) produjo los efectos contrarios (Figs. 4-2; 5-2; 6-1 D; 6-2 C). Esto había sido observado previamente en plantas cultivadas en hidroponía sujetas a deficiencias de S y en cultivos “in vitro” de espigas sujetas a deficiencias de N (Shewry et al., 1983; Rahman et al., 1983; Qi et al., 2006; Holopainen et al., 2015). Estas técnicas de cultivo permiten alcanzar deficiencias muy agudas de nutrientes en tiempos muy cortos lo que no refleja las condiciones de deficiencias moderadas típicas de los cultivos a campo con fines productivos. Nuestras observaciones, en cambio, fueron realizadas sobre ensayos realizados en cultivos comerciales de cebada típicos de la región pampeana.

III. La fertilización azufrada aumentó el extracto de malta (Figs 4-1; 6-2 C). Cabe destacar que esto ocurrió bajo deficiencias moderadas de este nutriente. No conozco antecedentes de efectos positivos del S sobre este importante índice del rendimiento industrial de la malta durante la maceración, primer paso en la fabricación de la cerveza. Dos trabajos previos estudiaron el efecto de la fertilización azufrada sobre el extracto de malta: un conjunto de experimentos realizados en Finlandia donde no se observaron efectos ni sobre el extracto ni sobre el rendimiento (por lo que se deduce que no existieron deficiencias de este nutriente) y otro realizado en el Reino Unido en el que

no se observaron efectos sobre el extracto, pero sí se observó un aumento del rendimiento en grano (Zhao et al., 2006; Holopainen et al., 2015).

IV. Las características del grano que presentaron las asociaciones más fuertes con el extracto de malta no fueron la proporción de las diferentes fracciones de hordeínas, sino la concentración total de hordeínas y proteínas de los granos (Cuadros 4-2 y 5-3, Figs. 4-3 y 6-1 K). Los mejores modelos de dos variables obtenidos incluyeron el calibre del grano y la concentración de hordeínas o proteínas en el grano. Los modelos de una o dos variables que incluían el porcentaje de hordeínas B o C o cualquier otra variable que reflejara la composición de hordeínas tenían valores de R^2 más bajos que los que solo incluían la concentración total de hordeínas o proteínas, a pesar de que la composición de hordeínas variaba mucho entre sitios y tratamientos. En los ensayos de fertilización azufrada y nitrogenada en siembra, la inclusión del porcentaje de hordeínas B en un modelo de tres variables sólo mejoró el coeficiente de determinación en menos de 0,03 mientras que en los ensayos de fertilización en espigazón la inclusión de cualquier fracción de hordeína no mejoró significativamente la asociación. Estos resultados indican que la proporción de las diferentes fracciones de hordeínas no desempeñaron un papel relevante en la determinación del extracto de malta. Anteriormente, Brennan et al. (1998) habían observado que la presencia de las hordeínas D no influían sobre el extracto de malta. Contrariamente, diversos autores observaron una asociación entre diferentes fracciones de hordeínas y el extracto de malta (Peltonen et al., 1994; Howard et al., 1996; Molina Cano et al., 2002, 2004; Otero et al., 2021). Estas diferencias podrían deberse a que en esta tesis todas las mediciones se realizaron sobre una sola variedad (aunque las proporciones de hordeínas variaron

notablemente). Otro motivo podría ser la forma en que se realizaron los análisis estadísticos en los trabajos donde sí se encontraron asociaciones

V. La fertilización nitrogenada en espigazón afectó a las proporciones de las distintas hordeínas: disminuyó la B, aumentó la C y no afectó a las D y γ (Fig. 5-2). Es decir que el efecto de la fertilización en espigazón fue similar a la fertilización a la siembra. La principal diferencia fue que la fertilización en espigazón no afectó a la concentración de hordeínas γ . No conozco antecedentes de los efectos de fertilizaciones nitrogenadas cercanas a espigazón sobre la composición de las hordeínas en que se haya utilizado fertilizantes que sólo aportaban N. Ajith et al. (2010), en tres ensayos de campo, observaron que el retraso en la aplicación simultánea de N, P y potasio al suelo no afectaba a las proporciones de hordeína B, C, D y γ , pero el efecto del P y el potasio pudieron haber afectado la observación del efecto del N.

6.2.2 Aportes al esclarecimiento de temas poco conocidos previamente

I. El calibre de los granos está compuesto por dos fracciones: los granos retenidos sobre un tamiz con orificios de 2,8 mm de ancho (fracción 1) y los que atraviesan ese tamiz, pero son retenidos en uno con orificios de 2,5 mm de ancho (fracción 2). En esta tesis se observó que los efectos de los tratamientos y los ambientes sobre el calibre del grano se explicaron principalmente por los cambios en la fracción 1 (Fig. 2-1). Las variaciones en la fracción 1 se asociaron negativamente con las variaciones de la fracción 2 (es decir que cuando un factor incrementa el calibre, no afecta o disminuye la fracción 2), lo que concuerda con los resultados reportados por Fox et al. (2006) al comparar diversos cultivares de cebada cervecera.

II. La fertilización azufrada aumentó la fermentabilidad (estimada a través de la ALA) y disminuyó la dureza de la malta (Figs 4-1 y 6-2 F). La disminución de la dureza de la malta debida a la fertilización azufrada indica un aumento de la modificación física del grano durante el proceso de malteado. En forma similar, Zhao et al. (2006) observaron que la fertilización azufrada aumentó la friabilidad, una prueba que también refleja el grado de modificación física del grano. El ALA es una medición que refleja el potencial de fermentación del mosto en el proceso de elaboración de la cerveza. De manera similar a lo que observé, Zhao et al. (2006) observaron que la fertilización azufrada aumentaba la fermentabilidad en mostos sin hervir. La fermentación del mosto sin hervir es típica de la producción de destilados como el whisky, mientras que la fermentación del mosto hervido, como la utilizada en la determinación del ALA, se realiza durante el proceso de elaboración de la cerveza (Briggs, 1998).

6.2.3. Aportes que confirman los resultados anteriores

I. La concentración de proteína en el grano estuvo determinada por la relación entre la disponibilidad de N y el rendimiento, donde la disponibilidad de N se evaluó como la suma del N como nitrato en el suelo al momento de la siembra y el N aplicado con los fertilizantes (Fig. 2-2). Otros autores han tratado de explicar las variaciones en la concentración de proteína en grano con índices que reflejan el compromiso entre la acumulación de N y la biomasa en los granos, aunque, hasta donde sabemos, nadie ha utilizado el que aquí se presenta. En un estudio sobre la respuesta de la cebada a la fertilización nitrogenada realizado en Canadá, los cambios en la concentración de proteína del grano se relacionaron con la relación entre el N absorbido por el cultivo sin fertilizar más el N aplicado y el rendimiento (McKenzie et al., 2004,

2005). Otros autores han relacionado la concentración de proteína del grano con la relación entre el rendimiento y el N absorbido en el trigo (Makowski et al., 1999; Barraclough et al., 2010) y en otros cultivos (Sadras 2006). Todos estos modelos evaluaron la oferta de N midiendo el N absorbido por el cultivo, información que no está disponible al inicio del ciclo del cultivo. En esta tesis se han utilizado dos componentes de la oferta de N del suelo (N como nitrato a la siembra y N aplicado como fertilizante).

II. En esta tesis se observó que el calibre de los granos y el peso individual de los granos están positivamente asociados cuando se comparan granos del mismo cultivar de cebada, pero de diferentes ambientes. Esta asociación se ha observado previamente cuando se compararon diferentes cultivares de cebada (Mather et al., 1997; Passarella et al., 2003). En esta tesis, cuando el peso individual del grano era relativamente alto (por ejemplo, superior a 38 mg), el calibre del grano no fue muy sensible a los cambios en el peso del grano individual.

III. La fertilización nitrogenada en espigazón disminuyó el extracto de malta, lo que confirma lo observado en tres informes de experimentos realizados en un solo sitio cada uno (Chen et al., 2006; Wang et al., 2007; Nanamori et al., 2008). La fertilización en espigazón aumentó la dureza de la malta. Esto no había sido informado en trabajos científicos previos, aunque Nanamori et al. (2008) observaron que la fertilización nitrogenada en la fase de vaina engrosada disminuía la friabilidad, lo que también reflejaba cambios en el grado de modificación física del grano. La fertilización en espigazón no afectó a la fermentabilidad. Nanamori et al. (2008), en cambio, en esta tesis se observaron cambios en la ALA producidos por la fertilización nitrogenada en vaina engrosada, pero en uno de los dos cultivares evaluados y sólo si se había

fertilizado previamente con una dosis baja de N basal, lo que sugiere que no es un efecto generalizado.

6.3. Posibles implicancias de esta tesis

A mi entender, esta tesis aporta información que puede facilitar la toma de decisiones en el manejo de cultivos de cebada. Es decir que puede ser aplicada directamente en los sistemas de producción agropecuarios. Los aportes relacionados a la calidad industrial de la cebada, aunque sean originales, no parecen ser aplicables directamente en la toma de decisiones en la industria maltera. Sin embargo, lo observado puede servir de base para futuras investigaciones que, además de ampliar el conocimiento, resulten en herramientas aplicables a nivel industrial, en especial en la adquisición de su principal materia prima (la cebada).

6.3.1 Posibles aplicaciones prácticas en el manejo de cultivos de lo observado en esta tesis

Para poder comercializar cebada con destino a las malterías es necesario que esta posea una mínima concentración proteica (usualmente alrededor de 10%) y en los sistemas agropecuarios pampeanos no se suele alcanzar este valor sin una fertilización nitrogenada adecuada. A partir de la relación entre la concentración de proteína en el grano y el cociente entre la disponibilidad de N y el rendimiento (donde la disponibilidad de N se evaluó como la suma del N como nitrato en el suelo al momento de la siembra y el N aplicado con los fertilizantes), el agricultor puede analizar cuáles son las posibles combinaciones de rendimiento y concentración de proteína que podrían obtenerse con una determinada dosis de fertilizante nitrogenado (Fig. 2-2). A la siembra, si se estima en forma realista el rendimiento que se espera obtener y se fija una

concentración proteica deseada (por ej., 10%), este índice podría utilizarse para estimar la dosis de fertilizante nitrogenado a aplicar. Considerando que en espigazón se dispone de mejor información para estimar el rendimiento, en esta etapa se puede estimar nuevamente la concentración proteica que se espera obtener. Si esta resulta demasiado baja, se puede decidir aplicar fertilizante nitrogenado en espigazón.

6.3.2. Líneas de investigación que pueden derivarse de esta tesis

La decisión de realizar una fertilización nitrogenada en espigazón requiere conocer cuál sería la concentración proteica que tendrían los granos en ese cultivo si no se fertiliza en dicho momento. Como ha sido explicado en el párrafo anterior, esto puede realizarse estimando el rendimiento que se va a obtener. Para mejorar la estimación durante espigazón de la concentración proteica que se va a obtener, sería útil elaborar modelos que permitan estimar el rendimiento o directamente la concentración proteica a partir de mediciones realizadas en el cultivo en momentos cercanos a espigazón. Dado que no se está evaluando la respuesta, para ello no sería necesario realizar experimentos, alcanzaría con realizar mediciones de características del cultivo en espigazón y de la concentración proteica en el grano obtenido en cultivos comerciales de cebada.

La fertilización azufrada incrementó el extracto de malta sin modificar la concentración total de hordeínas o de proteínas, principal determinante del extracto. Lo que efectivamente modificó la fertilización azufrada fue el tipo de hordeína, pero esta característica no influyó marcadamente al extracto. Es probable, entonces, que el incremento en el extracto por efecto de la fertilización azufrada esté mediado por

características del grano distintas a la concentración de proteínas u hordeínas. Dado que la fertilización azufrada puede modificar las concentraciones de las distintas proteínas del grano, es posible que la respuesta del extracto se deba a cambios en la actividad enzimática del grano que pueden afectarlo. Sería interesante evaluar cómo afecta la fertilización azufrada a la actividad amilásica y a las enzimas que degradan las paredes celulares del grano como las β -glucanasas en situaciones de deficiencias moderadas de este nutriente.

7. BIBLIOGRAFÍA

Abeledo, L.G., Calderini, D.F. y Slafer, G.A. 2011. Modelling yield response of a traditional and a modern barley cultivar to different water and nitrogen levels in two contrasting soil types. *Crop and Pasture Science* 62: 289-298.

Ajith, A., Labuschagne, M.T., Malan, A.F., van Biljon, A. y Wentzel, B. 2010. Relationship between malting quality traits and hordeins as affected by timing of nitrogen fertilizer application. *Cereal Chemistry* 87: 393-397.

Anderson, J.W. y Fitzgerald, M. 2003. Sulfur distribution and redistribution in vegetative and generative plants. pp 113-134. En Abrol, Y.P. y Ahmad A. (Eds.) *Sulfur in Plants*. Springer Netherlands, Dordrecht.

Andrade, F., Vega, C., Uhart, S, Cirilo, A., Cantarero, M. y Valentinuz, O. 1999. Kernel number determination in maize. *Crop Science* 39: 453-459.

Arata, A.F., Lerner, S.E., Tranquilli, G.E., Arrigoni, A.C. y Rondanini, D.P. (2017) Nitrogen \times sulfur interaction on fertiliser-use efficiency in bread wheat genotypes from the Argentine Pampas. *Crop and Pasture Science* 68: 202-212.

Arata, A.F., Rogers, W.J., Tranquilli, G.E., Arrigoni, A.C. y Rondanini, D.P. (2021) Nitrogen–sulfur fertilisation effects on gluten composition and industrial quality in Argentinean bread wheat cultivars differing in apparent sulfur recovery. *Crop and Pasture Science* 72, 183-196.

Araus, J.L. 2003. Physiological basis of the processes determining barley yield under potential and stress conditions: current research trends on carbon assimilation. Pp. 269-306. En: Slafer, G.A., Molina-Cano, J.L., Savin, R., Araus, J.L. y Romagosa, I. (Eds.),

Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality, CRC Press, Binghamton, New York.

Arisnabarreta, S. y Miralles, D.J. 2010. Nitrogen and radiation effects during the active spike-growth phase on floret development and biomass partitioning in 2- and 6-rowed barley isolines. *Crop and Pasture Science* 61: 578–587.

Arisnabarreta, S. y Miralles, D.J. 2015. Grain number determination under contrasting radiation and nitrogen conditions in 2-row and 6-row barleys. *Crop and Pasture Science* 66: 456-465.

Arisnabarreta, S. y Miralles, D.J. 2008. Critical period for grain number establishment of near isogenic lines of two- and six-rowed barley. *Field Crops Research* 107:196-202.

Baethgen, W.E. y Alley, M.M. 1989. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests. *Communications in Soil Science Plant Analysis* 20: 961-969.

Bamforth, C.W. y Fox, G.P. 2020. Critical aspects of starch in brewing. *BrewingScience* 73: 126-139.

Barbieri, P.A., Echeverría, H.E. y Sainz Rozas, H.R. 2009. Dosis óptima económica de nitrógeno en trigo según momento de fertilización en el sudeste bonaerense. *Ciencia del Suelo* 27: 115-125.

Barraclough, P.B., Howarth, J.R., Jones, J., Lopez-Bellido, R., Parmar, S., Shepherd, C.E. y Hawkesford, M.J. 2010. Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement. *European Journal of Agronomy* 33: 1-11.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. y Walker, S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistics Software* 67: 1–48.

Baxter, E.D. y Wainwright, T. 1979. Hordein and malting quality. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 37: 8–12.

Beillouin, D., Trépos, R., Gauffreteau, A. y Jeuffroy, M. 2018. Delayed and reduced nitrogen fertilization strategies decrease nitrogen losses while still achieving high yields and high grain quality in malting barley. *European Journal of Agronomy* 101: 174-182.

Bell, M.J., Strong, W., Elliott D. y Walker, C. 2013. Soil nitrogen-crop response calibration relationships and criteria for winter cereal crops grown in Australia. *Crop and Pasture Science* 64: 442-460.

Bertholdsson, N.O. 2004. The use of environmentally stable grain characteristics for selection of high extract yield and low [beta]-glucan in malting barley. *European Journal Agronomy* 20: 237-245.

Bishop, L.R. 1930 a. The Institute of Brewing Research Scheme. Statistical studies of the analytical data accumulated in the course of the barley investigations I. The prediction of extract. *Journal of the Institute of Brewing* 36: 421-434.

Bishop, L.R. 1930 b. The nitrogen content and quality of barley. *Journal of the Institute of Brewing* 36: 352-369.

Black, C.A. 1993. *Soil fertility evaluation and control*. Lewis Publisher, Boca Raton.

Bole, J.B. y Pittman, U.J. 1980. Spring soil water, precipitation, and nitrogen fertilizer: effect on barley yield. *Canadian Journal of Soil Science* 60: 461-469.

- Boulton, C. 2013. *Encyclopaedia of Brewing*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Brennan, C.S., Smith, D.B., Harris, N. y Shewry, P.R. 1998. The production and characterisation of Hor 3 null lines of barley provides new information on the relationship of D hordein to malting performance. *Journal of Cereal Science* 28: 291-299.
- Briggs, D.E. 1998. *Malts and malting*. Blackie Academic & Professional. Londres.
- Briggs, D.E, Boulton, CA, Brookes, PA y Stevens, R. 2004. *Brewing. Science and practice*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England & CRC Press. Boca Raton. U.S.A.
- Bulman, P. y Smith, D.L. 1993. Grain protein response of spring barley to high rates and post-anthesis application of fertilizer nitrogen. *Agronomy Journal* 85: 1109-1113.
- Burger, W.C. y LaBerge, D.E. 1985. Malting and brewing quality. Pp. 367-401 en Rasmusson, D.C. (Ed.) *Barley*. American Society of Agronomy. Madison U.S.A.
- Calderini, D., Savin, R., Abeledo, L., Reynolds, M.P. y Slafer, G.A. (2001) The importance of the period immediately preceding anthesis for grain weight determination in wheat. *Euphytica* 119: 199–204.
- Calviño, P. y Sadras, V.O. 2002. On-farm assessment of constraints to wheat yield in the south-eastern Pampas. *Field Crops Research* 74:1-11.
- Campbell, C.A., Zentner, R.P., Basnyat, P., DeJong, R., Lemke, R., Desjardins, R. y Reiter, M. 2008. Nitrogen mineralization under summer fallow and continuous wheat in the semiarid Canadian prairie. *Canadian Journal of Soil Science* 88: 681-696

Carciochi, W.D., Mateos, J., Divito, G.A., Inchauspe, F.M. y Sainz Rozas, H.R. 2019. Sulfur Mineralization: A Key Process for Diagnosing Its Deficiency in Trigo. *Soil Science Society of America Journal* 83: 1553-1563.

Cebada Cervecera. 2021. <http://cebadacervecera.com.ar/> (visitado el 24/6/21)

Celus, I., Brijs, K. y Delcour, J.A. 2006. The effects of malting and mashing on barley protein extractability. *Journal of Cereal Science* 44: 203-211.

Chen, J-X., Dai, F., Wei, K. y Zhang, G-P. 2006. Relationship between malt qualities and β -amylase activity and protein content as affected by timing of nitrogen fertilizer application. *Journal of the Zhejiang University of Science B* 7: 79-84.

Cossani, C.M., Slafer, G.A y Savin, R. 2009. Yield and biomass in wheat and barley under a range of conditions in a Mediterranean site. *Field Crops Research* 112: 205-213.

Coyos, T., Borrás, L., y Gambin, B. 2018. Site-Specific Covariates Affecting Yield Response to Nitrogen of Late-Sown Maize in Central Argentina. *Agronomy Journal* 110: 1544-1553.

Curin, F., Otegui, M.E. y González, F. 2021. Wheat yield progress and stability during the last five decades in Argentina. *Field Crops Research* 269: 108183.

Dalal, R.C., Strong, W.M., Weston, E.J., Cooper, J.E. y Thomas, G.A. 1997. Prediction of grain protein in wheat and barley in a subtropical environment from available water and nitrogen in Vertisols at sowing. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37: 351-357.

Davies, N. 2016. Malts. pp. 1-25. En Bamforth C.W. (Ed.) *Brewing Materials and Processes A Practical Approach to Beer Excellence*, Academic Press, Londres, Inglaterra.

Demotes-Mainard, S. y Jeuffroy, M.H. 2001 a. Incorporating Radiation and Nitrogen Nutrition into a Model of Kernel Number in Wheat. *Crop Science* 41: 415-423.

Demotes-Mainard, S. y Jeuffroy, M.H. 2001 b. Partitioning of dry matter and nitrogen to spike throughout the spike growth period in wheat crops subjected to nitrogen deficiency. *Field Crops Research* 70: 153–165

Demotes-Mainard, S. y Jeuffroy, M.H. 2004. Effects of nitrogen and radiation on dry matter and nitrogen accumulation in the spike of winter wheat. *Field Crops Research* 87: 221-233.

Demotes-Mainard, S., Jeuffroy, M.H. y Robin, S. 1999. Spike dry matter and nitrogen accumulation before anthesis in wheat as affected by nitrogen fertiliser: relationship to kernels per spike. *Field Crops Research* 64: 249-259.

Díaz de Astarloa, D.A. y Pengue, W.A. 2018. Nutrients Metabolism of Agricultural Production in Argentina: NPK Input and Output Flows from 1961 to 2015. *Ecological Economics* 147: 74-83.

Dreccer, M.F., Schapendonk, A.H.C.M., Slafer, G.A. y Rabbinge, R. 2000. Comparative response of wheat and oilseed rape to nitrogen supply: absorption and utilisation efficiency of radiation and nitrogen during the reproductive stages determining yield. *Plant and Soil* 220: 189-205.

European Brewery Convention. 1998. European Brewery Convention. Analytica-EBC (5a ed.) Fachverlag Hans Carl. Nürnberg, Alemania.

Eagles, H.A., Bedgood, A.G., Panozzo, J.F. y Martin, P.J. 1995. Cultivar and environmental effects on malting quality in barley. *Australian Journal of Agricultural Research* 46: 831-844

Ellis, R.P. y Marshall, B. 1998. Growth, yield and grain quality of barley (*Hordeum vulgare* L.) in response to nitrogen uptake. II. Plant development and rate of germination. *Journal of Experimental Botany* 49: 1021-1029

Eriksen, J., Nielsen, M., Mortensen, J.V. y Schjorring, J.K. 2001. Redistribution of sulphur during generative growth of barley plants with different sulphur and nitrogen status. *Plant and Soil* 230: 239-246.

Estimaciones Agrícolas. 2022.

<http://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones> (17/5/22)

FAOSTAT. 2022. <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. Visitado el 17/5/2022

Fathi, G., McDonald, G.K. y Lance, R.C.M. 1997. Effects of post-anthesis water stress on the yield and grain protein concentration of barley grown at two levels of nitrogen. *Australian Journal of Agricultural Research* 48: 67-80.

Ferrante, A., Savin, R. y Slafer, G. 2012. Differences in yield physiology between modern, well adapted durum wheat cultivars grown under contrasting conditions. *Field Crops Research* 136, 52-64.

Field, J.M., Shewry, P.R., Miflin, B.J. y March, J.F. 1982. The purification and characterization of homologous high molecular weight storage proteins from grain of wheat, rye and barley. *Theoretical and Applied Genetics* 62: 329-336.

Finnie, C. y Svensson, B. 2014. Barley Grain Proteins. pp. 123-168. En Shewry P.R. y Ullrich S.E. (Eds.) *Barley. Chemistry and Technology, Second Edition*, AACC International, St. Paul, U.S.A.

Fischer, R.A. 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *Journal Agricultural Science, Camb.* 105: 447-461.

Fischer, R.A. 1993. Irrigated spring wheat and timing and amount of nitrogen fertilizer. II. Physiology of grain yield response. *Field Crops Research* 33: 57-80.

Fischer, R.A. 2008. The importance of grain or kernel number in wheat: A reply to Sinclair and Jamieson. *Field Crops Research* 105: 15-21

Fischer, R.A. 1975. Yield Potential in a Dwarf Spring Wheat and the Effect of Shading. *Crop Science* 15: 607-613

Fischer, R.A. 1984. Growth and yield of wheat. Pp. 129-154 en Smith, W.H. y Bante, S.J. (eds) *Potential productivity of field crops under different environments*. International Rice Research Institute. Los Baños, Philippines.

Fischer, R.A., Howe, G.N. y Ibrahim, Z. 1993. Irrigated spring wheat and timing and amount of nitrogen fertilizer. I. Grain yield and protein content. *Field Crops Research* 33: 37-56.

Fox, G.P., Kelly, A., Poulsen, D., Inkerman, A. y Henry, R. 2006. Selecting for increased barley grain size. *Journal of Cereal Science* 43: 198-208.

García, G.A., Dreccer, M.F., Miralles, D.J. y Serrago, R.A. 2015, High night temperatures during grain number determination reduce wheat and barley grain yield: a field study. *Global Change Biology* 21: 4153-4164.

García del Moral, L.F., Sopena, A., Montoya, J.L., Polo, P., Voltas, J., Codesal, P., Ramos, J.M. y Molina-Cano J.L. 1998. Image analysis of grain and chemical composition of the barley plant as predictors of malting quality in mediterranean environments. *Cereal Chemistry* 75: 755-761.

Gómez, F.M., Prystupa, P., Boero, J.J. y Gutiérrez Boem, F.H. 2021. Sulfur partitioning and grain concentration differed from that for nitrogen in malting barley. *Field Crops Research* 263: 108053.

González, F.G., Miralles, D.J. y Slafer, G.A. 2011. Wheat floret survival as related to pre-anthesis spike growth. *Journal of Experimental Botany* 62: 4889–4901

Gooding, M.J. y Davies, W.P. 1992. Foliar urea fertilization of cereals: A review. *Fertilizer Research* 32: 209–222.

Gooding, M.J., Gregory, P.J., Ford, K.E. y Ruske, R.E. 2007. Recovery of nitrogen from different sources following applications to winter wheat at and after anthesis. *Field Crops Research* 100: 143-154.

Grant, C.A., Gauer, L.E., Bailey, L.D. y Gehl, D.T. 1991. Yield response of semidwarf and conventional height barley cultivars to nitrogen fertilizer under varying moisture conditions. *Canadian Journal of Plant Science* 71: 361-371.

Gutiérrez Boem, F.H., Prystupa, P y, Ferraris, G. 2007. Seed number and yield determination in sulfur deficient soybean crops. *Journal of Plant Nutrition* 30: 93-104.

Hallgren, L. y Murty, D.S. 1983. A screening test for grain hardness in sorghum employing density grading in sodium nitrate solution. *Journal of Cereal Science* 1: 265–274.

Holopainen, U.R.M., Rajala, A., Jauhiainen, L., Wilhelmson, A., Home, S., Kauppila, R. y Peltonen-Sainio, P. 2015. Influence of sulphur application on hordein composition and malting quality of barley (*Hordeum vulgare* L.) in northern European growing conditions. *Journal Cereal Science* 62: 151–158.

Janes, P.W. y Skerritt, J.H. 1993. High performance liquid chromatography of barley proteins: relative quantities of hordein fractions correlate with malt extract. *Journal of the Institute of Brewing* 99: 77-84.

Howard, K.A., Gayler, K.R., Eagles, H.A. y Halloran, G.M. 1996. The relationship between D Hordein and malting quality in barley. *Journal of Cereal Science* 24: 47-53.

Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B. y Christensen, R.H.B. 2017. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistics Software* 82: 1-26

Lavado, R.S. y Taboada, M.A., 2009. The Argentinean Pampas: A key region with a negative nutrient balance and soil degradation needs better nutrient management and conservation programs to sustain its future viability as a world agresource. *Journal of Soil and Water Conservation* 64: 150A-153A.

Lázaro, L., Abbate, P.E., Cogliatti, D.H. y Andrade, F.H. 2010. Relationship between yield, growth and spike weight in wheat under phosphorus deficiency and shading. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* 148: 83-93.

Lopez-Bellido, R.J., Shepherd, C.E. y Barraclough, P.B. 2004. Predicting post-anthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. *European Journal of Agronomy* 20: 313-320.

Magliano, P.N., Prystupa, P. y Gutiérrez-Boem, F.H. 2014. Protein content of grains of different size fractions in malting barley. *Journal of the Institute of Brewing* 120: 347–352.

Makowski, D., Wallach, D. y Meynard, J.M. 1999. Models of yield, grain protein, and residual mineral nitrogen responses to applied nitrogen for winter wheat. *Agronomy Journal* 91: 377-385.

Marconi, O., Sileoni, V., Sensidoni, M., Amigo Rubio, J.M, Perretti, G. y Fantozzi, P. 2011. Influence of barley variety, timing of nitrogen fertilisation and sunn pest infestation on malting and brewing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91: 820-830.

Martínez, F. y Cordone, G. 1998. Resultados de ensayos de fertilización azufrada en soja. Soja, campaña 97/98, ISDA EEA Oliveros.

Martínez-Dalmau, J., Berbel, J. y Ordóñez-Fernández, R. 2021. Nitrogen Fertilization. A Review of the Risks Associated with the Inefficiency of Its Use and Policy Responses. *Sustainability* 13:5625

Mather, D.E., Tinker, N.A., LaBerge, D.E., Edney, M., Jones, B.L., Rossnagel, B.G., Legge, W.G., Briggs, K.G., Irvine, R.G., Falk, D.E. y Kasha, K.J. 1997. Regions of the genome that affect grain and malt quality in a north american two-row barley cross. *Crop Science* 37: 544-554.

McKenzie, R.H., Middleton, A.B., Hall, L., DeMulder, J. y Bremer, E. 2004. Fertilizer response of barley grain in south and central Alberta. *Canadian Journal of Plant Science* 84: 513-523.

McKenzie, R.H., Middleton, A.B. y Bremer, E. 2005. Fertilization, seeding date, and seeding rate for malting barley yield and quality in southern Alberta. *Canadian Journal of Plant Science* 85: 603-614.

Mendes Bastos, L., Froes de Borja Reis, A., Sharda, A., Wright, Y. y Ciampitti, I. 2021. Current status and future opportunities for grain protein prediction using on- and off-combine sensors: a synthesis-analysis of the literature. *Remote Sensing* 13: 5027.

Molina-Cano, J.L., Polo, J.P., Romagosa, I. y MacGregor, A.W. 2004. Malting behaviour of barleys grown in Canada and Spain as related to hordein and enzyme content. *Journal of the Institute of Brewing* 110: 34-42.

Molina-Cano, J.L., Polo, J.P., Romera, E., Araus J.L., Zarco, J. y Swanston, J.S. 2001. Relationships between barley hordeins and malting quality in a mutant of cv. Triumph I. Genotype by environment interaction of hordein content. *Journal of Cereal Science* 34: 285-294.

Molina-Cano, J.L., Polo, J.P., Sopena, A., Voltas, J., Pérez-Vendrell, A.M. y Romagosa, I. 2000. Mechanisms of malt extract development in barleys from different european

regions: II. Effect of barley hordein fractions on malt extract yield. *Journal of the Institute of Brewing* 106: 117–123.

Molina-Cano, J.L., Romera, E., Aikasalo, R., Pérez-Vendrell, A.M., Larsen, L. y Rubió, A. 2002. A reappraisal of the differences between scandinavian and spanish barleys: effect of b-glucan content and degradation on malt extract yield in the cv. Scarlett. *Journal of the Institute of Brewing* 108: 221-226.

Mosher, M. y Trantham, K. 2017. *Brewing Science: A Multidisciplinary Approach*. Cham, Switzerland.

Nakagawa, S., Johnson, P.C.D. y Schielzeth, H. 2017. The coefficient of determination R^2 and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. *Journal of the Royal Society Interface* 14: 20170213.

Nanamori, M., Kanatani, R., Kihara, M., Kawahara, K., Hayashi, K., Watanabe, T., Shinano, T. y Osaki, M. 2008. Effects of nitrogen application on malt modification and dimethyl sulfide precursor production in two Japanese barley cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1464-1471.

Neter, J y Wasserman, W, Kutner, MH. 1990. *Applied linear statistical models: Regression, analysis of variance, and experimental designs*. Richard D. Irwin Inc., Homewood. EEUU.

O'Donovan, J.T., Turkington, T.K., Edney, M.J., Clayton, G.W., McKenzie, R.H., Juskiw, P.E., Lafond, G.P., Grant, C.A., Brandt, S., Harker, K.N., Johnson, E.N. y May, W.E. 2011. Seeding rate, nitrogen rate, and cultivar effects on malting barley production. *Agronomy Journal* 103: 709-716.

O'Donovan, J.T., Anbessa, Y., Grant, C.A., Macleod, A.L., Edney, M.J., Izydorczyk, M.S., Turkington, T.K., Juskiw, P.E., Lafond, G.P., May, W.E., Harker, K.N., Johnson, E.N., Beres, B.L., McAllister, T.A., Smith, E.G. y Chapman, W. 2015. Relative responses of new malting barley cultivars to increasing nitrogen rates in western Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 95: 831-839.

Orcellet, J.M., Reussi Calvo, N.I., Echeverría, H.E., Sainz Rozas, H.R., Diovisalvi, N. y Berardo, A. 2015. Eficiencia de uso de nitrógeno en cebada en el sudeste bonaerense: efecto de aplicaciones divididas. *Ciencia del Suelo* 33: 97–105

Otero E.A., Miralles, D.J., Peton, A., Conti, V., Giménez, F. y Benech-Arnold, R. 2021. On-field assessment of the environmental modulation of malting quality in barley crops. *Field Crops Research* 271: 108252.

Pahl, R., Meyer, B. y Biurrún, R. 2016. Wort and Wort Quality Parameters. pp. 113-121. En Bamforth C.W. (Ed.) *Brewing Materials and Processes A Practical Approach to Beer Excellence*, Academic Press, Londres, Inglaterra.

Palmer, G.H. 2006. Barley and malts. Pp. 139-160 en Priest, F.G. y Stewart. G.G (eds.) *Handbook of Brewing. Second Ed.* CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Ratón, EEUU.

Passarella, V.S., Savin, R. y Slafer, G.A., 2008 Are temperature effects on weight and quality of barley grains modified by resource availability? *Australian Journal Agric. Research* 59: 510-516.

Passarella, V.S., Savin, R., Abeledo, L.G. y Slafer, G.A. 2003. Malting quality as affected by barley breeding (1944-1998) in Argentina. *Euphytica* 134: 161-167.

Paynter, B.H. y Fettel, N.A. 2011. Cultural practices: focus on major barley producing regions. Australia. Pp 258-281 en Ullrich S.E. (ed.) *Barley: Production, Improvement, and Uses*. Wiley-Blackwell, New Jersey.

Peltonen, J., Rita, H., Aikasalo, R. y Home, S. 1994. Hordein and malting quality in Northern barleys. *Hereditas* 120: 231–239.

Pretini, N., Terrile, I.I., Gazaba, L.N., Donaire, G.M, Arisnabarreta, S., Vanzetti, L.S. y González F.G. 2020. A comprehensive study of spike fruiting efficiency in wheat. *Crop Science* 60: 1541– 1555.

Prystupa, P., Savin, R. y Slafer, G.A. 2004. Grain number and its relationship with dry matter, N and P in the spikes at heading in response to NxP fertilization in barley. *Field Crops Research* 90: 245-254.

Qi J.C., Zhang, G.P. y Zhou, M.X. 2006. Protein and hordein content in barley seeds as affected by nitrogen level and their relationship to beta-amylase activity. *Journal of Cereal Science* 43: 102-107.

R Core Team. 2019. The R project for statistical computing. <https://www.R-project.org/>.

Rahman, S., Shewry, P.R., Forde, B.G., Kreis, M. y Mifflin, B.J. 1983. Nutritional control of storage-protein synthesis in developing grain of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta* 159: 366-372.

Rani, H. y Bhardwaj, R.D. 2021. Quality attributes for barley malt: “The backbone of beer”. *Journal of Food Science* 86: 3322-3340.

Reussi Calvo, N.I., Sainz Rozas, H., Echeverría, H. y Berardo, A., 2013. Contribution of Anaerobically Incubated nitrogen to the diagnosis of nitrogen status in spring wheat. *Agronomy Journal* 105: 321-328.

Reussi Calvo, N.I., Carciochi, W., Queirolo, I., Prystupa P. y Sainz Rozas H. 2022. Economic optimum nitrogen rate analysis for feed and malting barley. *Crop Science* 62: 1997–2010.

Römheld, V. 2012. Chapter 11 - Diagnosis of Deficiency and Toxicity of Nutrients. Pp. 299-312. en *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)*. Marschner P. (ed.) Academic Press, Londres, Inglaterra.

Rubio, G., Lavado, R.S., Taboada, M.A, Scheiner, J.D., Zubillaga, M.M. y Vrdoljak, G. 1996. Ventajas de la fertilizacion combinada en colza-canola. *Oleaginosos* 14: 16-19.

Ruiz, A., Salvagiotti, F., Gambin, B. y Borrás, L. 2021. Maize nitrogen management in soils with influencing water tables within optimum depth. *Crop Science* 61: 1386-1399.

Sadras, V.O. 2006. The N:P stoichiometry of cereal, grain legume and oilseed crops. *Field Crops Research* 95: 13-29.

Sainju, U.M., Lenssen, A.W. y Barsotti, J.L. 2013. Dryland Malt barley yield and quality affected by tillage, cropping sequence, and nitrogen fertilization. *Agronomy Journal* 105: 329-340.

Salvagiotti, F., Ferraris, G., Quiroga, A., Barraco, M., Vivas, H., Prystupa, P., Echeverría, H. y Gutiérrez Boem, F.H. 2012. Identifying sulfur deficient fields by using sulfur content; N:S ratio and nutrient stoichiometric relationships in soybean seeds. *Field Crops Research* 135: 107-115.

Salvagiotti, F. y Miralles, D. 2008. Radiation interception, biomass production and grain yield as affected by the interaction of nitrogen and sulfur fertilization in wheat. *European Journal of Agronomy* 28: 282-290

Salvagiotti, F., Prystupa, P., Ferraris, G., Couretot, L., Magnano, L., Dignani, D. y Gutiérrez-Boem, F.H. 2017. N:P:S stoichiometry in grains and physiological attributes associated with grain yield in maize as affected by phosphorus and sulfur nutrition. *Field Crops Research* 203: 128-133.

San Martín, N., Navarro, C., Echeverría, H. 1987. Determinación de azufre total en material vegetal. *IDIA* 457-462: 40-45

Savin, R. y Slafer, G.A. 1991. Shading effects on the yield of an Argentinean wheat cultivar. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* 116: 1-7.

Savin R., Prystupa, P. y Araus, J.L. 2006. Hordein composition as affected by post-anthesis source-sink ratio under different nitrogen availabilities. *Journal of Cereal Science* 44: 113-116.

Schnug, E. y Haneklaus, S. 1998. Diagnosis of sulphur nutrition. Pp. 1-38 en *Sulphur in agriculture*, Schnug, E. (ed.) Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands.

Shewry, P.R. y Tatham, A.S. 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochemical Journal* 267: 1-12.

Shewry, P.R. y Halford, N.G. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53: 947-958.

Shewry, P.R., Franklin, J., Smith, S. y Miflin, B.J. 1983. The effects of sulphur deficiency on the aminoacid and protein composition of barley grain. *Journal of Cereal Science* 1: 21-31.

Shewry P.R., Field, J.M., Kirkman, M.A., Faulks, A.J. y Miflin, B.J. 1980. The extraction, solubility and characterization of two groups of barley storage polypeptides. *Journal of Experimental Botany* 31: 393-407.

Silva, F., Nogueira, L.C., Gonçalves, C., Ferreira, A.A., Ferreira, I., y Teixeira, N. 2008. Electrophoretic and HPLC methods for comparative study of the protein fractions of malts, worts and beers produced from Scarlett and Prestige barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. *Food Chemistry* 106: 820-829

Simmonds, N.W. 1995. The relation between yield and protein in cereal grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 67: 309–315.

Slack, P.T., Baxter, E.D. y Wainwright, T. 1979. Inhibition by hordein of starch degradation. *Journal of the Institute of Brewing* 85: 112-114

Slafer, G., Andrade, F. y Feingold, S. 1990. Genetic improvement of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in Argentina: relationships between nitrogen and dry matter. *Euphytica* 50: 63-71.

Smith, D.B. 1990. Barley seed protein and its effects on malting and brewing quality. *Plant varieties and seeds* 3: 63-80

Stark, J.C. y Brown, B.D. 1987. Estimating nitrogen requirements for irrigated malting barley. *Communications Soil Science Plant Analysis* 18: 433-444.

Stewart, W.M., Dibb, D.W., Johnston, A.E. y Smith, T.J. 2005. The contribution of commercial fertilizer nutrients to food production. *Agronomy Journal* 97: 1-6.

Swanston, J.S., Wilhelmson, A., Ritala, A. y Gibson B.R. 2014. Malting, Brewing, and Distilling. pp. 193-222. En Shewry P.R. y Ullrich S.E. (Eds.) *Barley. Chemistry and Technology, Second Edition*, AACC International, St. Paul, U.S.A.

Szeicz, G. 1974. Solar radiation for plant growth. *Journal of Applied Ecology* 11: 617-636.

Tabatabai, M.A., y Bremner, J.M. 1970. A Simple Turbidimetric Method of Determining Total Sulfur in Plant Materials¹. *Agronomy Journal*: 62: 805-806.

Thirulogachandar, V., R. Koppolu, y T. Schnurbusch. Strategies of grain number determination differentiate barley row types. *Journal of Experimental Botany* 72: 7754-7768.

Thirulogachandar, V. y T. Schnurbusch. 2021. 'Spikelet stop' determines the maximum yield potential stage in barley. *Journal of Experimental Botany* 72: 7743-7753.

Triboi, E. y Triboi-Blondel, A.M. 2002. Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem--invited paper. *European Journal of Agronomy* 16: 163-186.

Ullrich, S.E. 2014. Chapter 1 - The Barley Crop: Origin and Taxonomy, Production, and End Uses. Pp 1-9 en *Barley (Second Edition)*. Shewry, P.R. y Ullrich S.E. (Eds.). American Associate of Cereal Chemists International, AACC International Press. St. Paul, Minnesota, U.S.A.

Velasco, J.L., Rozas, H.S., Echeverría, H.E. y Barbieri, P.A. 2012. Optimizing fertilizer nitrogen use efficiency by intensively managed spring wheat in humid regions: effect of split application. *Canadian Journal of Soil Science* 92: 847–856.

Veliz, C.G., Criado, M.V., Roberts, I.N., Echeverria, M., Prystupa, P., Prieto, P., Gutierrez Boem, F.H. y Caputo, C. 2014. Phloem sugars and amino acids as potential regulators of hordein expression in field grown malting barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Cereal Science* 60: 433-439.

Verón, S.R., Paruelo, J.M. y Slafer, G.A. 2004. Interannual variability of wheat yield in the Argentine Pampas during the 20th century. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 103: 177-190.

Vitousek, P.M., Aber, J. D, Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H. y Tilman, D.G. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological Applications* 7: 737-750.

Wang, J., Chen, J., Dai, F., Wu, F., Yang, J. y Zhang, G. 2007. Protein fractions in barley grains as affected by some agronomic factors and their relationships to malt quality. *Cereal Research Communications* 35: 129-140.

Wuest S.B. y Cassman K.G. 1992. Fertilizer-nitrogen use efficiency of irrigated wheat: i. uptake efficiency of preplant versus late-season application. *Agronomy Journal* 84: 682-688.

Wieser H., Antes, S. y Seilmeier, W. 1998. Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry* 75: 644-650.

Zhang, H., Richards, R., Riffkin, P., Berger, J., Christy, B., O'Leary, G., Acuña Botwright, T. y Merry, A. 2019. Wheat grain number and yield: The relative importance of physiological traits and source-sink balance in southern Australia. *European Journal of Agronomy* 110: 125935.

Zhang, T., Chandler, W.S., Hoell, J.M., Westberg, D., Whitlock, C.H. y Stackhouse Jr, P.W. 2009. A global perspective on renewable energy resources: NASA's prediction of Worldwide Energy Resources (Power) project. En *Proceedings of ISES World Congress 2007* (vol. I-V) Springer: Berlin, Heidelberg.

Zhao, F.J., Fortune, S., Barbosa, V.L., McGrath, S.P., Stobart, R., Bilsborrow, P.E., Booth, E.J., Brown, A. y Robson, P. 2006. Effects of sulphur on yield and malting quality of barley. *Journal of Cereal Science* 43: 369-377.

Zhao, F.J., Hawkesford, M.J. y McGrath, S.P. 1999. Sulphur assimilation and effects of yield and effects on yield and quality of wheat. *Journal of Cereal Science* 30: 1-17.