



BIOFORTIFICACIÓN AGRONÓMICA Y GENÉTICA CON ZINC DE GENOTIPOS
DE TRIGO HARINERO (*TRITICUM AESTIVUM* L.) EN CLIMA MEDITERRÁNEO

Francisco Gómez-Coronado
Romero

2015

UNIVERSIDAD DE  EXTREMADURA

TESIS DOCTORAL

BIOFORTIFICACIÓN AGRONÓMICA Y
GENÉTICA CON ZINC DE GENOTIPOS DE
TRIGO HARINERO (*TRITICUM AESTIVUM* L.)
EN CLIMA MEDITERRÁNEO

FRANCISCO GÓMEZ-CORONADO ROMERO

DEPARTAMENTO DE
INGENIERÍA DEL MEDIO AGRONÓMICO Y FORESTAL

2015

Tesis doctoral

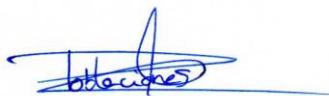
Biofortificación agrónomica y genética con Zinc de
genotipos de trigo harinero
(*Triticum aestivum* L.) en clima mediterráneo

Autor:

Francisco Gómez-Coronado Romero

Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal

Conformidad de los directores:



Fdo: María José Poblaciones Suarez-Bárcena



Fdo: Ana Sofia Vieira Días de Almeida

2015

Desde estas palabras me gustaría expresar mi más sincero y profundo agradecimiento a todas las personas e instituciones que, de forma desinteresada, han hecho posible el desarrollo y finalización de esta tesis doctoral.

En primer lugar, a mis directoras María José Poblaciones Suarez-Bárcena y Ana Sofía Vieira Días de Almeida por abrirme las puertas al mundo de la investigación e incorporarme profesionalmente a esta área. Su apoyo y confianza han hecho que este trabajo sea posible, y a crecer enormemente como persona. Gracias por vuestro tiempo prestado, orientación e infinita paciencia, pero sobre todo por la motivación y apoyo recibido durante estos cuatro años de trabajo, sin ellos esta tesis no hubiera sido posible.

Me gustaría agradecer de forma especial al Instituto Nacional de InvestigaçãO Agrária e Veterinária, en concreto al Polo de Elvas (INIAV-EMP), por todo el apoyo económico, profesional y personal prestado, en especial a su coordinador el Dr. Ing. Bemvindo Maças y al Dr. Ing. José Coutinho, así como a la investigadora Dra. Rita Costa y a los técnicos superiores Nuno Pinheiro, João Coco, Armindo Costa y Conceição Gomes. Gracias por vuestra orientación, por la enorme formación que recibí y espero seguir recibiendo, en esas charlas tan fructíferas, por transmitirme la pasión a la investigación de campo, y por vuestra sincera y enorme amistad. Agradecer también a las asistentes técnicas Ana Sofía Bagulho, Beatriz Jara y Maria Terrinca por esos buenos momentos “*batas blancas*” vividos en laboratorio, y a todo el personal de campo por estar siempre ahí.

De igual forma, me gustaría agradecer a la Universidad de Extremadura, en especial al departamento de Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal, por el apoyo personal, profesional y técnico, en especial al Doctor Leopoldo Olea Márquez de Prado por mostrar su apoyo a esta investigación y por su motivación, y a los Doctores Oscar Santamaría Becerril y Sara Morales Rodrigo, así como al jefe de laboratorio Teodoro García White, gracias por vuestros ánimos y consejos técnicos. De igual forma, me gustaría agradecer al Doctor Ismail Cakmak de la Universidad de Sabanci (Turquía), por su apoyo profesional y técnico, desde el primer hasta el último momento, a este proyecto, por prestarnos sus instalaciones así como los medios necesarios para la misma. A todos y a cada uno de ellos, gracias.

En estas líneas quería agradecerle a Rebeca por su paciencia y comprensión durante estos años. Son muchos los momentos vividos y las fuerzas prestadas para continuar hacia delante. Gracias por todo tu cariño y comprensión, y hacerme mejor cada día dándome lo mejor de ti. Gracias también a Mariano y María José, por vuestra comprensión y cariño a lo largo de estos años.

Para finalizar, agradecerles a mis padres Francisco e Inés por todo el cariño, paciencia y apoyo para llegar hasta este momento. Gracias por la educación cuidada que me habéis dado, a la paciencia y perseverancia para alcanzar las metas, y por aprender a valorar que las pequeñas cosas hacen grandes a los hombres. A mis hermanas Almudena y Teresa, y a mis cuñados Manuel y Miguel Ángel, gracias por vuestro cariño y comprensión, y a mis sobrinos que aunque pequeños han crecido junto a este trabajo.

A todos y cada uno de vosotros, Gracias

Dedicado a mis padres

“He sido como un niño pequeño que, jugando en la playa, encontraba de tarde en tarde un guijarro más fino o una concha más bonita de lo normal. El océano de la verdad se extendía, inexplorado, delante de mí”

Sir Isaac Newton (1642-1727)



Resumen



La combinación de la mejora genética y la biofortificación agronómica es el aprovechamiento más razonable para minimizar los problemas relacionados con la deficiencia de Zinc (Zn) en las personas. La aplicación de Nitrógeno (N) está considerada como una prometedora estrategia agronómica en la biofortificación con Zn debido a que se estimula la captación foliar de Zn cuando es mezclado con N. Los experimentos de campo fueron efectuados en el sudeste de Portugal en suelos deficientes de Zn. Trece cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) fueron fertilizados, durante dos años, con cuatro tratamientos con $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$: i) control; ii) aplicación al suelo; iii) aplicación foliar; y iv) combinación de ambas aplicaciones suelo y foliar. Un segundo experimento fue realizado con seis cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año 2012/13 con otros dos tratamientos de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ con N: una aplicación foliar de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ con N; y una aplicación al suelo y una aplicación foliar de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ con N. Los resultados obtenidos muestran que las bajas precipitaciones produjeron un 46% más de Zn en el grano pero un 67% menos en la producción de grano. La biofortificación genética no fue suficiente para producir granos con suficiente Zn, siendo necesaria la combinación con la biofortificación agronómica para alcanzar niveles saludables en *Triticum aestivum* L. Las aplicaciones foliar y suelo+foliar incrementaron el contenido de Zn en el grano en 20 mg Zn kg^{-1} ; la aplicación al suelo incrementó la producción de grano en aproximadamente 350 kg ha^{-1} pero no en el contenido de Zn en el grano; la combinación de la aplicación suelo y foliar causó un incremento medio en la producción de grano. La aplicación al suelo incrementó la altura de las plantas en 3,6 cm, pero no excedieron el límite de 100 cm. Las diferentes formas de aplicación de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ no causaron un efecto significativo en el contenido de proteína y peso de mil granos, pero incrementaron el peso hectolitro y disminuyeron el índice de sedimentación SDS. Los contenidos de los diferentes macro y microelementos estuvieron afectados por la aplicación de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$: la aplicación al suelo originó una disminución significativa en el contenido de K, P, Mg, Ca y Cu; la aplicación foliar disminuyó el contenido de Fe y Cu; la combinación de las aplicaciones suelo y foliar incrementaron el contenido de S, Fe y Mn, y disminuyeron el contenido de K, P y Cu. Además, se encontró una alta correlación positiva entre el Fe y S con el Zn. Los cultivares difieren significativamente en su capacidad de acumular Zn en el grano bajo todos los tratamientos con $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, siendo INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9 y las variedades comerciales las mejores, e INIAV-4 la peor. La sustitución de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ por una dosis de N, aunque incrementó 1,8 veces el contenido de Zn en el grano, no fue



suficiente para alcanzar el objetivo de 45 mg Zn kg^{-1} . Así, para un efectivo programa de biofortificación bajo condiciones mediterráneas, puede ser crucial combinar dos aplicaciones de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ con la elección de los cultivares más eficientes.



Resumo



A combinação entre o melhoramento genético e a biofortificação agronómica é a forma mais eficaz de minimizar os problemas relacionados com a deficiência do Zinco (Zn) nas populações. A aplicação conjunta de Zn com azoto (N) é considerada uma estratégia agronómica eficiente na biofortificação de Zn devido a que se estimula a captação foliar de Zn quando este é aplicado conjuntamente com N. Os ensaios do campo foram realizados no sudeste de Portugal (Elvas) e em solos deficientes em Zn. Treze cultivares do trigo mole (*Triticum aestivum* L.) foram submetidas a fertilização, durante dois anos, em quatro tipos de tratamento com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$: i) controlo; ii) aplicação no solo; aplicação foliar; e iv) combinação de ambas as aplicações, solo e foliar. Um segundo ensaio foi realizado com seis cultivares do trigo mole (*Triticum aestivum* L.) no ano 2012/13 testando dois outros tratamentos com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ e N: a) uma aplicação foliar de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O} + \text{N}$; e b) uma aplicação no solo e uma aplicação foliar de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O} + \text{N}$. Os resultados obtidos mostram que as baixas precipitações ocorridas foram responsáveis pelo aumento em 46% na quantidade de Zn no grão, no entanto, obteve-se 67% menos na produção final de grão. A biofortificação genética não foi suficiente para se produzirem grãos de trigo com suficiente Zn, sendo necessária a combinação com a biofortificação agronómica para se alcançarem níveis aceitáveis deste micronutriente em *Triticum aestivum* L. As aplicações foliar e solo+foliar aumentaram os teores de Zn no grão em 20 mg Zn kg^{-1} ; a aplicação no solo aumentou a produção de grão aproximadamente em 350 kg ha^{-1} mas não o teor de Zn no grão; a combinação das duas aplicações, solo e foliar, causou um incremento medio na produção de grão. A aplicação de Zn no solo provocou um aumento na altura das plantas de 3,6 cm, não excedendo, no entanto, o limite de 100 cm. As diversas formas de aplicação de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ não originaram um efeito significativo no teor de proteína e no peso dos mil grãos, mas a massa do hectolitro foi incrementada e o índice de sedimentação (SDS) diminuiu. Os teores dos diferentes macro e microelementos foram afetados pela aplicação de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. A aplicação ao solo originou uma diminuição significativa no teor de K, P, Mg, Ca e Cu; a aplicação foliar diminuiu o teor de Fe e Cu; a combinação das aplicações solo e foliar aumentaram o teor de S, Fe e Mn e diminuíram o teor de K, P e Cu. Foi também encontrada uma alta correlação positiva entre o Fe e S com o Zn. Os diferentes cultivares estudados diferem significativamente na sua capacidade de acumular Zn no grão em todos os tratamentos com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ realizados. INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9 e as variedades comerciais foram as que demonstraram os melhores resultados, revelando-se INIAV-4 a pior. A substituição de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ por uma dose de N, aumentando em 1,8



vezes o teor do Zn no grão, não foi suficiente para alcançar o objetivo de 45 mg Zn kg^{-1} . Assim, para que se obtenham bons resultados num programa de biofortificação em condições mediterrâneas, é essencial a combinação de duas aplicações de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ com a seleção das cultivares mais eficientes.



Summary



The combination of plant breeding and agronomic biofortification is the most reasonable approach to minimize Zinc (Zn) deficiency-related problems in humans. Nitrogen (N) application is considered a promising agronomic strategy for the biofortification with Zn because foliar uptake of Zn is stimulated when is mixed with N. Fields experiments were conducted in south-eastern part of Portugal, where soils are deficient in Zn. Thirteen cultivars of bread-making wheat (*Triticum aestivum* L.) were fertilized, over two years, with four ZnSO₄-7 H₂O treatments as following: i) control, ii) soil application, iii) foliar application and iv) both soil and foliar application. A second field experiment was realized with six cultivars of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in 2012/13 with other two ZnSO₄-7 H₂O and N treatments: one foliar ZnSO₄-7 H₂O with N application, and soil and one foliar ZnSO₄-7 H₂O with N application. Results obtained showed that low rainfall produced 46% more of grain Zn content but about 67% less of grain yield. Genetic biofortification was not enough to produce grains with enough Zn, being the combination with an agronomic biofortification necessary to get healthy levels in *Triticum aestivum* L. Foliar and combined soil+foliar applications increased grain Zn content in 20 mg Zn kg⁻¹; soil application increased grain yield in about 350 kg ha⁻¹ but not on the grain Zn content; combined soil and foliar application ZnSO₄-7 H₂O caused average increased in yield. Soil Zn application increased 3.6 cm height plants, but not exceed the limit of 100 cm. Different ZnSO₄-7 H₂O application did not significant effect in protein and thousand kernel weight, but increase hectolitre weight and decrease SDS. The content of different macro and microelements was affected by ZnSO₄-7 H₂O application: soil application caused a significant decreased in K, P, Mg, Ca and Cu content; foliar application increased Fe and Cu content; combined soil and foliar application increased S, Fe and Mn, and decrease K, P and Cu content. Furthermore, a high positive correlation was founded between Fe and S with Zn. The cultivars behaved differently in their capacity to accumulate Zn in grain under all the Zn treatments, being INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9 and the commercial varieties the best, and INIAV-4 the worst. The replacement of ZnSO₄-7 H₂O by one dose of N, although increase 1.8 times grain Zn content, was not able to achieve the target level of 45 mg Zn kg⁻¹. Therefore, for an effective biofortification program under Mediterranean condition may be crucial combine two foliar Zn applications with choose the most efficient genotypes.



Índice

Resumen.	I
Resumo..	V
Summary	IX
Índice.....	XIII
Índice de tablas	XIX
Índice de figuras.....	XXIX
1. Introducción	1
1.1. El Zn en el suelo	3
1.2. Absorción y metabolismo de las plantas.....	7
1.2.1. Uso eficiente de los nutrientes	10
1.2.2. Factores que afectan a la absorción del Zn por las plantas.....	10
1.3. Importancia del Zn en las plantas, animales y humanos: Influencia en la salud.....	12
1.3.1. Importancia en las plantas	12
1.3.2. Importancia en los animales	13
1.3.3. Importancia en el ser humano.....	16
1.4. Dieta e ingesta de Zn en el mundo, Europa y España.....	18
1.5. Contenido de Zn en los alimentos.....	21
1.6. Importancia del trigo harinero	24
1.6.1. Niveles de Zn en el grano de trigo.....	27
1.7. Estrategias de remediación	28
1.7.1. Biofortificación genética	30
1.7.2. Biofortificación agronómica.....	32
1.7.2.1. Biofortificación agronómica con Zn y nitrógeno	37
2. Objetivos.....	39

3. Material y métodos.....	43
3.1. Localización del experimento.....	45
3.2. Clima	46
3.3. Edafología.....	47
3.4. Manejo del cultivo	51
3.5. Determinaciones y análisis	53
3.6. Análisis estadístico	56
4. Resultados y discusión	57
4.1. Condiciones climáticas	59
4.2. Propiedades del suelo de las localizaciones de los ensayos	61
4.3. Resultados y discusión Objetivo I	63
4.3.1. Longitud del ciclo.....	65
4.3.2. Altura.....	67
4.3.3. Producción de grano	70
4.3.4. Peso de mil granos y peso hectolitro	75
4.3.5. Parámetros de calidad.....	79
4.3.6. El Zinc en el grano	85
4.3.7. Interacción del contenido del Zn en el grano con los parámetros de producción y de calidad.....	93
4.3.8. Otros elementos nutritivos.....	95
4.3.8.1. Potasio (K)	97
4.3.8.2. Fósforo (P)	99
4.3.8.3. Azufre (S)	101
4.3.8.4. Magnesio (Mg)	103
4.3.8.5. Calcio (Ca).....	105
4.3.8.6. Hierro (Fe)	107

4.3.8.7. Cobre (Cu)	109
4.3.8.8. Manganeso (Mn)	112
4.4. Resultados y discusión Objetivo II.....	115
4.4.1. El Zinc en el grano.....	117
4.4.2. Efecto sobre la producción del grano, peso hectolitro y peso de los mil granos	122
4.4.3. Contenido de proteína del grano.....	126
4.4.4. Interacción del contenido del Zn en el grano con los parámetros de producción y de calidad	129
5. Conclusiones.....	133
6. Conclusões.....	139
7. Referencias	143
Anejos Objetivo I.....	175
Anejos Objetivo II	199



Índice de tablas



Tabla 1.1. Resultado de las concentraciones de Zn total encontradas en diferentes áreas geográficas del planeta, de acuerdo a diferentes autores y tipos de suelo.....	4
Tabla 1.2. Enzimas que precisan Zn y sus funciones en los animales	14
Tabla 1.3. 49 elementos esenciales para la vida de las personas.....	17
Tabla 1.4. Ingestas recomendadas de Zn en diferentes etapas de la vida.....	19
Tabla 1.5. Ingesta máxima diaria de Zn recomendada en diferentes países.....	21
Tabla 1.6. Contenidos de Zn en los principales alimentos, incluyendo cereales y leguminosas en España y en el mundo.	22
Tabla 1.7. Concentraciones de Zn en el grano de las especies del género <i>Triticum ssp</i>	27
Tabla 1.8. Estrategias de remediación de Zn, alcance y coste económico	29
Tabla 1.9. Dosis de aplicación en diversos estudios realizados en diferentes lugares del mundo	34
Tabla 3.1. Tratamientos utilizados para el objetivo I: dosis y momentos de aplicación	49
Tabla 3.2. Variedades comerciales y cultivares pertenecientes a líneas avanzadas del programa de mejora genética, aún en estudio, de trigo harinero utilizados para el Objetivo 1	49
Tabla 3.3. Tratamientos utilizados en el objetivo 2: dosis y momento de aplicación.	50
Tabla 3.4. Líneas avanzadas, variedades comerciales, así como el motivo de selección, en el año 2010/2011, de trigo harinero en estudio, utilizados para el Objetivo 2	51
Tabla 3.5. Fechas de siembra y aplicación de los diferentes tratamientos en los objetivos 1 y 2.....	51
Tabla 3.6. Tratamientos herbicidas y fungicidas, y los productos comerciales empleados en los diferentes años de estudio	52
Tabla 3.7. Tipo de abonado, fecha de aplicación, denominación del abono y dosis empleadas en los diferentes años de estudio	53
Tabla 4.1. Resultados de los análisis físico químicos del suelo de la finca “Herdade da Comenda” a 25 cm de profundidad.	61



Tabla 4.2. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de las longitudes de ciclo: días a espigado, días a antesis y días a grano lechoso, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.....	65
Tabla 4.3. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de la altura en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas	68
Tabla 4.4. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de la producción de grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas.....	70
Tabla 4.5. Variación de la producción con respecto a la temperatura óptima de formación del grano, y variación de la temperatura media en el periodo de desarrollo del grano, de acuerdo a diversos autores	71
Tabla 4.6. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de los parámetros peso de mil granos y peso hectolitro, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.....	75
Tabla 4.7. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de los parámetros de calidad proteína, SDS y cenizas en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.....	79
Tabla 4.8. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) del contenido de Zn en grano y del Zn acumulado por hectárea, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.....	86
Tabla 4.9. Interacción del contenido de Zn en grano con la producción, peso de 1000 granos, peso hectólitro, contenido de proteína y cenizas, así como el índice de sedimentación SDS, para los diferentes tratamientos realizados con Zn fertilizante, en los años agrícolas 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas	93
Tabla 4.10. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de macroelementos (K, P, S, Mg, Ca) y microelementos (Fe, Cu y Mn) presentes en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.	95
Tabla 4.11. Contenido de macroelementos (K, P, S, Mg, Ca) y microelementos (Fe, Cu y Mn) presentes en el grano, y su comparativa con los valores encontrados por otros autores.....	97



Tabla 4.12. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en K en el grano	99
Tabla 4.13. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en P en el grano	101
Tabla 4.14. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en S en el grano	103
Tabla 4.15. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en Mg en el grano.....	105
Tabla 4.16. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en Ca en el grano	107
Tabla 4.17. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en Fe en el grano	109
Tabla 4.18. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en Cu en el grano	111
Tabla 4.19. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en Mn en el grano.....	112



Tabla 4.20. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) del contenido de Zn en grano y del Zn acumulado por hectárea, en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.....	117
Tabla 4.21. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de la producción, peso de mil granos y peso hectolitro, en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.....	122
Tabla 4.22. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de los parámetros de calidad proteína, SDS y cenizas, en el año agrícola 2012/13 y bajo condiciones mediterráneas.....	126
Tabla 4.23. Interacción del contenido de Zn en grano con la producción, peso de 1000 granos, peso hectolitro, contenido de proteína, índice de sedimentación SDS, porcentaje de cenizas, así como para los diferentes tratamientos realizados con Zn y N fertilizante, en el año agrícola 2012/13, bajo condiciones mediterráneas.....	130
Tabla I. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre el número de días a espigado (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	177
Tabla II. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre el número de días a antesis (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	178
Tabla III. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre el número de días a grano lechoso (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio	179
Tabla IV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre la altura de las plantas (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio	180
Tabla V. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre la producción de grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio	181



Tabla VI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el peso de mil granos (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	182
Tabla VII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el peso hectólitro (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	183
Tabla VIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido proteico (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	184
Tabla IX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el índice de sedimentación SDS (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio	185
Tabla X. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de cenizas (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	186
Tabla XI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido Zn total en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio	187
Tabla XII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre la acumulación de Zn por hectárea en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	188
Tabla XIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de K en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum</i> L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.....	189



Tabla XIV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de P en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **190**

Tabla XV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de S en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **191**

Tabla XVI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Mg en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **192**

Tabla XVII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Ca en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **193**

Tabla XVIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Fe en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **194**

Tabla XIX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Cu en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **195**

Tabla XX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Mn en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio **196**

Tabla XXI. Ingesta diaria recomendada (IDR) según varios autores así como cantidades ingeridas y el % que representan sobre las IDRs de K, P, S, Mg, Ca, Fe, Cu y Mn por el consumo de 150g de grano completo tras la aplicación de los tratamientos con Zn (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) **197**



Tabla XXII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el contenido total de Zn en el grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	201
Tabla XXIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el contenido de Zn acumulado por hectárea (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	201
Tabla XXIV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre la producción de grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	202
Tabla XXV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el peso de mil granos (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	202
Tabla XXVI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el peso hectolitro (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	203
Tabla XXVII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el contenido proteico (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	203
Tabla XXVIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el índice de sedimentación SDS (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	204
Tabla XXIX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el porcentaje de cenizas (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el año agrícola 2012/13	204



Índice de figuras



Figura 1.1. Áreas afectadas por deficiencia de Zn en el mundo.....	5
Figura 1.2. Modelo de localización de Zn, captación o genes de transporte.....	9
Figura 1.3. Zonas de clima Mediterráneo en el mundo.	11
Figura 1.4. Ingesta de Zn ($\text{mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$), por comunidades autónomas.....	20
Figura 3.1. Ubicación de la parcela de ensayo.	45
Figura 4.1. Precipitación (anual y mensual) y temperatura (media de máximas y mínimas mensuales) durante los años 2010/11, 2012/13 y de la media de los 30 años. Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) de la estación Campus Universitario de Badajoz.	59
Figura 4.2. Variación de precipitaciones de los años 2010/11 y 2012/13 por meses con respecto a la media de 30 años. Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) de la estación Campus Universitario de Badajoz.	60
Figura 4.3. Efecto de los cultivares estudiados sobre el número de días a espigado (a) a antesis (b) y a grano lechoso (c) durante los años agrícola 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.....	66
Figura 4.4. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante sobre la altura del trigo durante los años agrícola 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: a la izquierda al mismo nivel de año, y a la derecha a diferente nivel de año.	68
Figura 4.5. Efecto de los cultivares estudiados sobre la altura media para los años agrícola 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.	69



Figura 4.6. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y cultivares estudiados sobre la producción durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año72

Figura 4.7. Efecto de los tratamientos con Zn fertilizante sobre la producción de grano, durante los años agrícola 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P < 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.74

Figura 4.8. Efecto del Zn fertilizante sobre el peso hectólitro en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.....76

Figura 4.9. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y los cultivares estudiados sobre el peso de mil granos durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año77

Figura 4.10. Efecto de los cultivares estudiados sobre el peso hectólitro en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año78

Figura 4.11. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de proteínas y cenizas en el grano, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.....81



- Figura 4.12. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de proteína y cenizas, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año. **82**
- Figura 4.13. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y los cultivares estudiados sobre el índice de sedimentación SDS durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año. **84**
- Figura 4.14. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y los cultivares estudiados sobre el Zn captado por hectárea durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año. **87**
- Figura 4.15. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Zn en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.. **89**
- Figura 4.16. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Zn en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año. **90**
- Figura 4.17. Cantidad de Zn aportada por la ingesta de pan de trigo (harina grano completo) establecida por la FEN, 2007; FAO, 2004; FAO, 2011b; INE, 2014 y elaborado con los cultivares objeto de estudio, realizado con los valores medios de los dos años, y bajo diferentes formas de aplicación de Zn. **92**



Figura 4.18. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de K en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.**98**

Figura 4.19. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de K en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.**98**

Figura 4.20. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de P en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.**100**

Figura 4.21. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de P en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.**100**

Figura 4.22. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de S en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año**102**

Figura 4.23. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de S en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.**102**



Figura 4.24. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Mg en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año **104**

Figura 4.25. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Mg en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año **104**

Figura 4.26. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Ca en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año **106**

Figura 4.27. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Ca en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año. **106**

Figura 4.28. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Fe en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año **108**

Figura 4.29. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Fe en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año **108**



- Figura 4.30. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Cu en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.**110**
- Figura 4.31. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Cu en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.....**110**
- Figura 4.32. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Mn en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.....**112**
- Figura 4.33. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Mn en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año**112**
- Figura 4.34. Efecto del Zn y N fertilizante sobre el contenido de Zn en grano en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos**118**
- Figura 4.35. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Zn en el grano en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares**118**
- Figura 4.36. Efecto del Zn y N fertilizante sobre la acumulación de Zn por hectárea en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos**120**



- Figura 4.37. Efecto de los cultivares estudiados sobre la acumulación de Zn por hectárea en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares..... **120**
- Figura 4.38. Cantidad de Zn aportada por la ingesta de pan de trigo (harina de grano completo) establecida por la FEN (2007), FAO (2004), FAO (2011b) e INE (2014) de los cultivares objeto de estudio, bajo las diferentes formas de aplicación de Zn y N..... **121**
- Figura 4.39. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre producción, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones Mediterráneas. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la izquierda, bajo diferentes niveles de aplicación..... **124**
- Figura 4.40. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el peso de 1000 granos, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones Mediterráneas. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la izquierda, bajo diferentes niveles de aplicación **125**
- Figura 4.41. Efecto del Zn fertilizante sobre el peso hectolitro en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos **126**
- Figura 4.42. Efecto de los cultivares estudiados sobre el peso hectolitro en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares..... **126**
- Figura 4.43. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el contenido proteico, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación..... **127**



Figura 4.44. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el índice de sedimentación SDS, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación**128**

Figura 4.45. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el porcentaje de cenizas en el grano, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación.....**129**



1. Introducción



El **zinc** o **cinc** (del alemán *Zink*) es un elemento químico esencial que fue descubierto por el químico alemán Andreas Marggraf en 1746, de número atómico 30 y masa atómica 65,38. Considerado como metal de transición, se encuentra en forma de sulfuro, carbonato o silicato en la naturaleza. Presenta color blanco, brillante y blando, utilizándose desde la antigüedad en la fabricación de pilas eléctricas, para formar aleaciones tales como el latón, o para galvanizar hierro o acero (RAE, 2014).

El Zn presenta dos estados de oxidación, aunque el mayoritario en la naturaleza es el estado +2, existiendo de forma minoritaria en el estado de oxidación +1 (Kiekens, 1995; Alloway, 2008). Dentro de los productos compuestos, el óxido de zinc es el más importante tanto cualitativamente como cuantitativamente (Rubio *et al.*, 2007).

Toda la vida en la tierra se desarrolla en presencia de Zn, jugando un papel fundamental en diferentes reacciones biológicas, siendo por tanto un elemento esencial para la vida, tanto para los microorganismos como para los seres humanos (IZA, 1997). Por ello, mantener unos niveles adecuados en los alimentos, se hace completamente necesario para el correcto desarrollo de la vida.

1.1. El Zinc en el suelo

El Zn es uno de los elementos más abundantes de la tierra, ocupando el lugar 23° de entre ellos (USGS, 2013). Aproximadamente un 0,012% de la corteza terrestre es Zn (Robert, 1997; González-Reimers *et al.*, 1998), presentando un nivel medio natural de entre 50 y 55 mg kg⁻¹ (Kiekens, 1995; Timsida y Connor, 2001), rango que Malle (1992) estableció entre 10 y 300 mg kg⁻¹, dependiendo en gran medida, como se puede observar en la Tabla 1.1, de la composición geoquímica de la roca madre, cuyo contenido medio es de 78 mg kg⁻¹ (Krauskopf, 1979; Timsida y Connor, 2001).



Tabla 1.1. Resultado de las concentraciones de Zn total encontradas en diferentes áreas geográficas del planeta, de acuerdo a diferentes autores y tipos de suelo.

País	Tipo de suelo	Concentración (mg kg ⁻¹)	Referencia
	Suelos viejos y rocas erosionadas	< 2-180	Tiller, 1983
Australia	Alcalinos no calcáreos (< 2% CaCO ₃)	4-41	Bertrand <i>et al.</i> , 2002
EE. UU.	Suelos agrícolas "no contaminados"	56,5 68	Holmgren <i>et al.</i> , 1993 Angelone y Bini, 1992
	Suelos contaminados por fuentes metalicoferrosa y lodos de depuradora	97	McGrath, 1992
Inglaterra	Suelos arenosos	35	McGrath, 1992
	Suelos franco gruesos	65	McGrath, 1992
	Limo fino	90	McGrath, 1992
	Arcilloso	106	McGrath, 1992
	Suelos arenosos (<20% arcilla)	40	Baize, 1997
Francia	Margas (20-30 % arcilla)	63,5	Baize, 1997
	Arcilloso (30-50 % arcilla)	98	Baize, 1997
	Muy arcilloso (>50% arcilla)	132	Baize, 1997
	Suelos arenosos	37 (3-762)	Kabata-Pendias <i>et al.</i> , 1992
Polonia	Suelos "loess" (depósitos de arcilla originado por la deposición de arcilla)	60 (28-116)	Kabata-Pendias <i>et al.</i> , 1992
	Margas	75 (37-725)	Kabata-Pendias <i>et al.</i> , 1992
	Arenosos	27,3	Baize <i>et al.</i> , 1999
Alemania	Arcillo-limoso	59,2	Baize <i>et al.</i> , 1999
	Arcillosos	76,4	Baize <i>et al.</i> , 1999
N.O. de	Franco-Arenoso >83% arena (Suelo agrícola)	28,8	Rigueiro-Rodriguez <i>et al.</i> , 2012
España	Franco-Arenoso >70 % arena (Suelo forestal)	32,5	Rigueiro-Rodriguez <i>et al.</i> , 2012

Los datos arrojados por la Tabla 1.1 muestran diferentes contenidos en Zn en el suelo en diversas partes del mundo y bajo diferentes tipos de suelo. Teniendo en cuenta que según Alloway (2008), los suelos con concentraciones inferiores al rango entre 10 y 30 mg Zn kg⁻¹ se consideran como deficientes, existen numerosas partes del mundo que presentarían dicha deficiencia (Figura 1.1). Las concentraciones medias en los suelos de los países europeos varían entre 7 y 89 mg kg⁻¹, destacando Dinamarca como el país con las menores concentraciones, y por el contrario, Italia como el país con las mayores concentraciones de Zn en el suelo (Angelone y Bini, 1992; Kabata-Pendias y Pendias,



1999; Kabata-Pendias, 2011), encontrándose España en una zona de deficiencia (Tabla 1.1 y Figura 1.1).

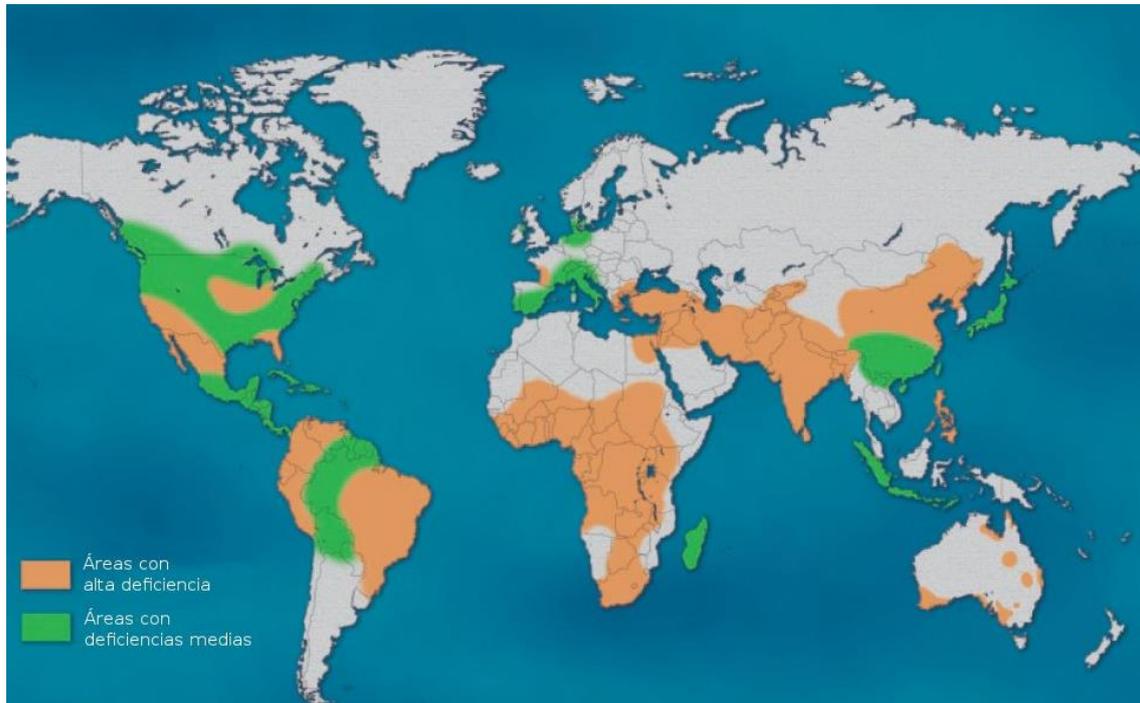


Figura 1.1: Áreas afectadas por deficiencia de Zn en el mundo. *Fuente:* Alloway, 2008.

Por contra, en algunas áreas geográficas y debido a procesos geológicos y geoquímicos naturales, el Zn se concentró en valores superiores, siendo éstos los explotados en yacimientos mineros (IZA, 1997). Gracias a los procesos naturales de erosión, tales como el desgaste y abrasión de las rocas y suelos, y su posterior sedimentación por el viento o el agua, así como a las erupciones volcánicas, los incendios forestales y a la formación de aerosoles sobre los océanos, una pequeña fracción de Zn es continuamente movilizada y transportada por el medioambiente, originando el denominado *ciclo del Zn* (IZA, 1997).

Del contenido total de Zn en el suelo, sólo una parte puede ser extraída por las plantas. Este fenómeno es debido a que este nutriente puede presentarse en forma intercambiable, ligado orgánicamente, retenido en el interior de complejos no intercambiables de arcillas, minerales y óxidos metálicos insolubles, o como resultado de la meteorización de minerales primarios (Alloway, 2008). Sólo en su forma intercambiable y de ion es disponible para las plantas siendo, de esta forma, potencialmente lixiviable a



horizontes inferiores (Alloway, 2008). Para medir el Zn biodisponible existen diferentes métodos de extracción, siendo el Zn-DTPA (ácido dietiltriaminopentaacético), desarrollado originalmente por Lindsay y Norvel (1969 y 1978) para identificar la deficiencia de micronutrientes en suelos cercanos a la neutralidad y suelos calcáreos, el más utilizado para predecir la disponibilidad de Zn para las plantas en el suelo (Sadeghzadeh, 2013). En la actualidad, es ampliamente utilizado para medirlo en suelos de moderados a ácidos (Sadeghzadeh, 2013). Así, el Zn-DTPA se puede definir como la forma de quelato estable con iones metálicos en el intercambio de Zn con un metal de gran capacidad de unión (Alloway, 2008). Los umbrales normales se encuentran entre 0,5 y 2 mg Zn-DTPA kg⁻¹ (Alloway, 2002; Singh *et al.*, 2005), siendo 0,5 mg kg⁻¹ el valor crítico aceptado para considerar un contenido aceptable en Zn extraíble para el correcto desarrollo de los cultivos (Sims y Johnson, 1991).

Además de la llamada *deficiencia primaria*, es decir la deficiencia en Zn ocasionada por bajos niveles de Zn total en el suelo, o de la definida por Sillanpää (1982) como *deficiencia secundaria o inducida* debida a niveles bajos de Zn biodisponible en el suelo, existen otra serie de factores edáficos que afectan a la disponibilidad del Zn, y por tanto que están relacionados con la deficiencia del mismo. Según Alloway (1972), estos son entre otros: suelos con zona radicular restringida ya sea por la escasa profundidad de los suelos, problemas de compactación o técnicas culturales demasiado agresivas (Lindsay, 1972; Alloway, 2008); suelos calcáreos, generalmente con pH mayores de 7,4, ya que la solubilidad del Zn disminuye con el incremento del pH, aunque el nivel de Zn total sea adecuado (Lindsay, 1972; Marschner, 1993; Graham y Welch, 1996; Alloway, 2004 y 2008); suelos con bajo contenido en arcilla y en materia orgánica, ya que su capacidad de retención del Zn es baja (Cakmak, 2009a); temperaturas bajas del suelo ya que, por un lado, se desarrolla peor el sistema radicular y por otro se reduce la descomposición microbiana de la materia orgánica, con lo que podría reducirse el Zn disponible para el nuevo cultivo (Lindsay, 1972; Marschner, 1993). El contenido de diferentes minerales en el suelo también afecta a la disponibilidad de Zn. Así, el nitrógeno (N) puede afectar a la disponibilidad del Zn al incrementar los niveles de formación de proteína, pudiendo provocar que, a dosis muy elevadas de N, el Zn quede retenido en forma de proteínas en el complejo de Zn y no sea trasladado a toda la planta (Uauy *et al.*, 2006; Cakmak *et al.*, 2010a); o que la acidez de los fertilizantes nitrogenados disminuyan el pH del suelo, disminuyendo la disponibilidad del Zn. Las altas aplicaciones de fósforo (P) puede inhibir



la absorción del Zn al reducir el área de absorción de las raíces y su translocación a la parte aérea (Alloway, 2008; Barben *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2011), pudiendo cuantificarse dicha reducción entre el 33 y el 39% (Ryan *et al.*, 2008). El calcio (Ca) inhibe la absorción de Zn debido a su influencia sobre el pH, de tal forma que la presencia de altos niveles de Ca en el suelo es considerado como un factor antinutricional con respecto al Zn (Alloway, 2008; Blair, 2013), al igual que el altos niveles de manganeso (Mn) (Alloway, 2008; Blair, 2013). El cobre (Cu) puede provocar una reducción en la absorción al compartir la misma ruta de absorción en las raíces con el Zn, ocurriendo una inhibición competitiva (Alloway, 2008). Por último, el azufre (S) es considerado esencial puesto que favorece la asociación entre el S y el Zn, al poseer el Zn una gran habilidad a unirse mediante enlaces sulfhidrilo (House *et al.*, 1996, Cakmak, 2000).

Como es de esperar, las regiones del mundo donde es más evidente la falta de Zn en el suelo, coinciden con las zonas en las que la deficiencia del mismo en la población también está más extendida, debido a la ingesta de alimentos pobres en el mismo, ya que estos fueron cultivados en zonas de baja fitodisponibilidad (White y Broadley, 2005a; Graham *et al.*, 2007; Cakmak, 2008a). Los casos más graves se encuentran en India, Pakistán, China, Irán y Turquía (Cakmak *et al.*, 1999; Alloway, 2004; Hotz y Brown, 2004) (Figura 1.1).

1.2. Absorción y metabolismo de las plantas

La toma y posterior transporte y acumulación del Zn por parte de las plantas está menos clarificada que para otros microelementos (Figura 1.2). Para provocar un incremento de las concentraciones minerales en los tejidos vegetales, sin pérdida de rendimiento, es decir, realizar un uso eficiente de los nutrientes, el Zn debe ser absorbido por las raíces (de minerales presentes en la solución del suelo), para provocar una redistribución efectiva dentro del tejido de la planta y una acumulación en tejidos comestibles, todo ello en forma no tóxica (Welch y Graham, 2005).

El Zn puede ser tomado, a través de la membrana plasmática de las células de las raíces, ya sea como catión Zn^{2+} o bien como complejo de Zn fitosideróforo, de la solución del suelo (Grotz y Guerinot, 2006; Suzuki *et al.*, 2006; Ismail *et al.*, 2007; Borrill *et al.*,



2014), estando su absorción mediada por proteínas ZIPs (Zrt- Irt-Like Protein) e YSL (Yellow Stripe Like), con una fuerte afinidad con el Zn (Sharma *et al.*, 1990; Borrill *et al.*, 2014) introduciéndolo por los canales de Ca^{2+} , los cuales pueden ser permeables al Zn^{2+} (Demidchik *et al.*, 2002; White *et al.*, 2002).

Se asume que la mayoría del Zn es transportado a través de la raíz al xilema, aunque una gran parte puede atravesar las raíces y alcanzar el xilema vía apoplasto (White *et al.*, 2005b; Broadley *et al.*, 2007). En el xilema, el Zn puede ser transportado como Zn^{2+} o como complejo con ácidos orgánicos, histidina o nicotianamina (Von Wirén *et al.*, 1999; Broadley *et al.*, 2007; Palmgren *et al.*, 2008). Para su transporte se produce un flujo de masa, siendo un proceso pasivo en el cual el Zn entra en la planta a través de la raíz dependiendo de la concentración de Zn en la solución del suelo y de la evapotranspiración (Neue *et al.*, 1998). Una parte de Zn puede acumularse en los tejidos de la raíz y trasladarse cuando sea necesario (Broadley *et al.*, 2007). Cuando las raíces se ponen en contacto o muy cercanas con algunos sólidos que tienen Zn retenido débilmente, puede ocurrir un intercambio entre $\text{Zn}(\text{OH})_2$ y Zn^{2+} (Neue *et al.*, 1998).

Se ha estimado que aproximadamente un 70% de las reservas de Zn existente en las partes vegetativas de las plantas de trigo es movilizado (Grusak *et al.*, 1999), estando su capacidad de traslocación al grano controlada por mecanismos homeostáticos (Marschner, 1995b; Borg *et al.*, 2009; Dwivedi *et al.*, 2012).

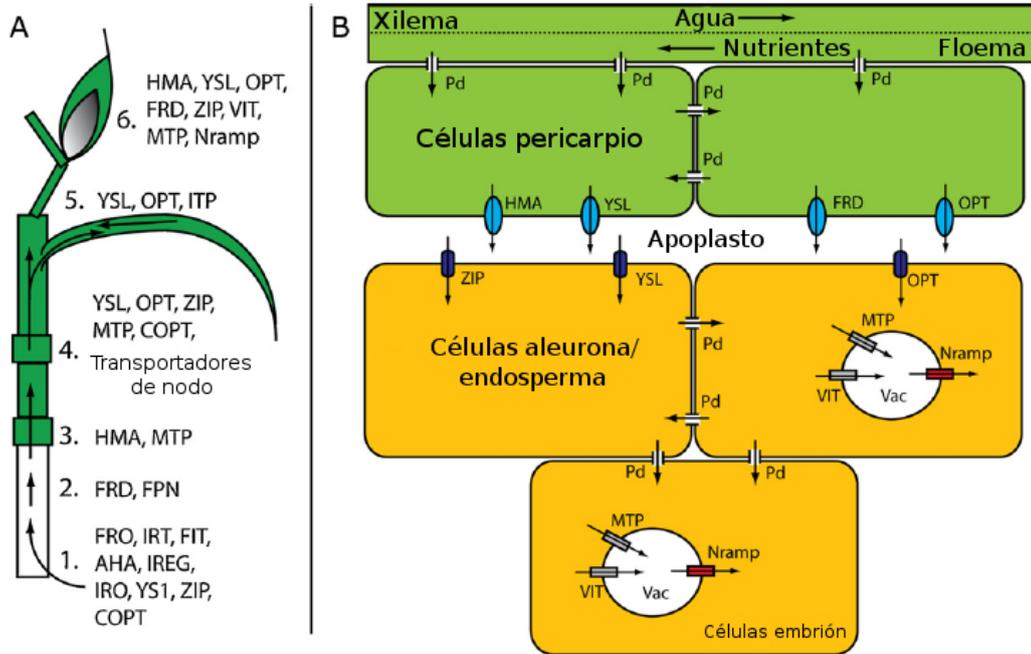


Figura 1.2. Modelo de localización de Zn, captación o genes de transporte.

(A) Modelo de una planta de trigo que muestra los pasos de movimiento de traslado de Zn a la semilla: 1, captación en la rizosfera; 2, cargado en el xilema; 3, transferencia desde las raíces a la parte aérea; 4, distribución a la hojas o tejidos de los granos; 5, cargado en el floema para moverlo hacia la semilla; 6, cargado al grano.

(B) Detalle del cargado en el grano. Familia de genes potencialmente involucrados en el transporte de micronutrientes minerales en el grano, son representadas en una localización hipotética o conocida. Los tejidos maternos son mostrados en verde, los tejidos hijos en dorado. El transporte del flujo de salida es mostrado en azul, la membrana plasmática transportadora de absorción en azul oscuro, la vacuola transportadora de absorción en gris y la vacuola flujo de salida en rojo. Fuente: Waters y Sankaran, 2011.

Todos estos procesos se encuentran regulados por genes que codifican gran cantidad de las proteínas responsables de la absorción, formación de complejos y distribución en las plantas, mostrando sobreexpresión en situaciones de deficiencia de Zn (Sagardoy, 2011). Entre ellos están los genes que codifican los ZIPs, HMAs (Heavy Metals Accumulations), YSLs y ZIF-1 (Zinc Finger-Interacting Factor) (Filatov *et al.*, 2006; Haydon y Cobbet, 2007b; Krämer *et al.*, 2007; Milner y Kochian, 2008), así como otras enzimas involucradas en la síntesis de fitosideróforos (Filatov *et al.*, 2006; Haydon y Cobbet, 2007b; Krämer *et al.*, 2007; Milner y Kochian, 2008). Por ello, se ha demostrado que la mayoría del Zn^{2+} entra al citoplasma mediado por proteínas transportadoras ZIPs (ZIP1, ZIP3 y ZIP4) (Assunção *et al.*, 2001; López-Millán *et al.*, 2004; Broadley *et al.*, 2007; Palmgren *et al.*, 2008), mientras que las proteínas YSL (Yellow Stripe Like) toman este elemento del floema, formando complejos para su transporte, tales como Zn-NA (Zinc



Nicotianamina) o formando un complejo con pequeñas proteínas (Small Protein-SP) (Gross *et al.*, 2003; Haydon y Cobbett, 2007a; Puig *et al.*, 2007; Waters y Grusak, 2008a), considerándose generalmente la movilidad del Zn en el floema baja, aunque no siempre es así (Welch, 1995; Haslett *et al.*, 2001).

1.2.1. Uso eficiente de los nutrientes.

El uso eficiente de un nutriente puede ser definido agronómicamente como la producción obtenida por unidad de nutriente utilizado (Fageria *et al.* 2008; Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2010; Dwivedi *et al.*, 2012). Así, se puede decir que los cultivares más eficientes son los que, en ambientes semiáridos mediterráneos, producen mayor cantidad de materia seca y de grano bajo condiciones de baja fitodisponibilidad de Zn (Alloway, 2008).

El uso eficiente de los nutrientes, incluyendo el Zn, se basa en dos componentes principales: la productividad del cultivo y las necesidades nutricionales del mismo (Dwivedi *et al.*, 2012). En términos prácticos, cuando un cultivo crece en un suelo con bajo contenido de Zn fitodisponible, un cultivar eficiente es capaz de obtener mayor producción en comparación con uno ineficiente (Dwivedi *et al.*, 2012). Esas diferencias genotípicas pueden deberse a una mejor o peor absorción, distribución y transporte del Zn a la semilla, facilitando o dificultando tanto la nascencia como el establecimiento y desarrollo de la futura planta (Baligar *et al.*, 2001; Fageria *et al.*, 2008; Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2010).

1.2.2. Factores que afectan a la absorción del Zn por las plantas.

Además de las causas de deficiencia establecidas en el punto 1.1 “*el Zinc en el suelo*” entre las que se encuentran el alto contenido de carbonatos (CaCO_3), el pH elevado, la abundancia de óxidos de Fe y aluminio (Al) o el bajo contenido en materia orgánica, se pueden indicar la variabilidad genética y la climatología como otras posibles causas de baja fitodisponibilidad. Las diferentes especies de plantas y variedades difieren en su grado de sensibilidad o tolerancia a la deficiencia en Zn presentando diferentes contenidos de nutrientes esenciales (Monasterio y Graham, 2000). Así, el trigo presenta menor eficiencia en su captación y translocación del Zn al grano que el centeno (*Secale cereale* L.) y el triticale (*x Triticosecale* Wittmack), que son los cereales más eficientes en la asimilación



de éste elemento (Cakmak *et al.*, 1999). Welch (2001) y Cakmak *et al.*, (2004) comprobaron como los contenidos de Zn en trigo duro (*Triticum durum* L.) son mayores que los contenidos encontrados en trigo harinero (*Triticum aestivum* L.). Dentro de la misma especie, existe también una gran variabilidad genética (Rengel y Graham, 1995a; Cakmak *et al.*, 1996a, 1996b y 1999). Se ha comprobado incluso cómo los cultivares más eficientes en la absorción y posterior acumulación de Zn, mostraron una disminución en su rendimiento al ser cultivados en suelos deficientes en este elemento (Graham *et al.*, 1992; Cakmak *et al.*, 1997), o cómo las líneas modernas de trigos hexaploides son más susceptibles a la deficiencia de Zn que los trigos diploides, siendo las formas primitivas de trigo hexaploides las que presentan mayor tolerancia (Cakmak, 2000).



Figura 1.3: Zonas de clima mediterráneo en el mundo. Fuente: Silva *et al.*, 2012.

Otros autores indican que, además de los factores ya citados, la radiación tiene un efecto muy importante en la concentración de micronutrientes y, por tanto, en su disponibilidad para las plantas (Tisdale y Nelson, 1975; Cakmak, 2008a; Joshi *et al.*, 2010; Velu *et al.*, 2014), puesto que las hojas acumulan energía que no puede ser aprovechada de forma correcta o sintetizada por la falta de Zn (Cakmak, 2009a). Por tanto, es importante el estudio de las concentraciones de Zn en las condiciones de clima mediterráneo (Figura 1.3), que por su clima seco, elevada temperatura e intensidad de radiación durante el llenado del grano afectarán, de forma notable, al contenido de Zn en los cereales.



Ante la gran variabilidad inter e intraespecífica del contenido de Zn en los diferentes cultivos, se puede comprender el gran interés de estudiar la eficiencia de diferentes cultivares de trigo sobre la acumulación de Zn en el grano.

1.3. Importancia del Zn en las plantas, animales y humanos: Influencia en la salud

Los minerales son elementos químicos inorgánicos presentes en la corteza terrestre. Existen 16 minerales esenciales, de los cuales 11 son requeridos en pequeñas cantidades y/o son tan abundantes en los alimentos y agua potable que su deficiencia ocurre en muy raras condiciones, mientras que los restantes (yodo (I), hierro (Fe), zinc (Zn), calcio (Ca) y selenio (Se)), se encuentran en cantidades limitadas en numerosos alimentos (White y Broadley, 2005a; Graham *et al.*, 2007). Fue Raulin quien en 1869 demostró la necesidad del Zn en los seres vivos, descubriendo que el moho común del pan (*Aspergillus niger*) no podía crecer en su ausencia. Fue posteriormente, en 1932, cuando se identificó por primera vez esta deficiencia en condiciones de campo (Alloway, 2008).

Mientras el Zn en las plantas interviene en procesos tan importantes como la fotosíntesis o la formación de azúcares (Hershinkel, 2006; Krämer y Clemens, 2006; Palmgreen *et al.*, 2008), en las personas y en los animales el Zn está implicado en tres funciones biológicas trascendentales: catalizadora, estructural y de regulación de iones, además de ser un componente fundamental de miles de proteínas (Andreini *et al.*, 2006; Bertini y Rosata, 2007).

1.3.1. Importancia en las plantas

El Zn es un mineral esencial para todos los organismos vivos, incluyendo por tanto a las plantas, en las que interviene en gran cantidad de procesos vitales (Broadley *et al.*, 2007; Alloway, 2008). Interviene en numerosas funciones metabólicas debido a su tendencia a formar enlaces con el nitrógeno (N), oxígeno (O) y particularmente con el azufre (S) (Marschner, 1995a). Se han identificado más de 70 metaloenzimas que contienen Zn en las plantas (Brown *et al.*, 1993; Alloway, 2008), siendo un cofactor en aproximadamente 300 enzimas (Coleman, 1998), y jugando un papel esencial en la regulación y expresión de los genes bajo condiciones de estrés (Prasad, 2010). El Zn interviene en la fotosíntesis y formación de azúcares, síntesis proteica, incluyendo factores



de transcripción (Hershinkel, 2006; Krämer y Clemens, 2006; Palmgreen *et al.*, 2008), siendo requerido por aproximadamente 2.800 proteínas para sus procesos regulatorios, catalíticos y funciones estructurales (Sharma *et al.*, 1990). Además, juega un papel fundamental en la fertilidad y producción de semillas, regulación del crecimiento, defensa contra enfermedades y formación de clorofila (Alloway, 2008; Prasad, 2010). De esta forma, una dosis correcta del mismo permitirá la activación de varias enzimas importantes tanto en el crecimiento como en la síntesis de triptófano, precursores clave de las auxinas (Campbell *et al.*, 2008), la estimulación del metabolismo del N, la formación de pigmentos flavonoides y de ácido ascórbico (Sharma *et al.*, 1990).

La demanda de Zn en la planta varía en función de las partes de la misma, siendo mayor en el polen el cual puede contener hasta 80 mg Zn kg⁻¹, mientras que las hojas, con un adecuado nivel de Zn, contienen aproximadamente 30 mg Zn kg⁻¹ (Cakmak, 2011). Por esta razón es bastante posible que una planta presente deficiencia de Zn en ausencia de síntomas visibles en sus hojas, situación que se ha denominado como *deficiencia oculta de Zn* (Cakmak, 2011).

Otro factor determinante en la aparición de los síntomas de deficiencia de Zn en las plantas se refiere a la intensidad de la luz a la que las plantas están expuestas. Cuanto más intensa es la luminosidad mayor será la severidad de la clorosis debido a la acumulación de energía en las hojas que no puede ser debidamente aprovechada o sintetizada por la falta de Zn (Cakmak, 2009b).

1.3.2. Importancia en los animales

El Zn forma parte de aproximadamente 300 metaloenzimas (Valle y Auld, 1990) estando involucrado en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas, ácidos nucleicos y división celular, hasta en procesos como la reproducción o el funcionamiento del sistema inmunológico (Pechin, 1999) (Tabla 1.2).



Tabla 1.2. Enzimas que precisan Zn y sus funciones en los animales.

Enzima	Función
Anhidrasa carbónica	Transporte de CO ₂
Alcohol deshidrogenasa	Oxidación de alcoholes
Retinos deshidrogenasa	Oxidación de retinol (Vitamina A)
Fosfatasa alcalina	Hidrólisis de grupos fosfato
D-gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Glucólisis
Fructosa 1-6 difosfatasa	Gluconeogénesis
Málico deshidrogenasa	Ciclo de Krebs (malato-oxalacetato)
Láctico deshidrogenasa	Piruvato a lactato (Anaerobiosis)
Alfa manosidasa	Hidrólisis de polímeros de manosa (glicoproteínas)
Glutámico deshidrogenasa	Alfa-ceto glutarato + NH ₄ para dar glutamato
Ácido aminolevulínico deshidrogenasa	Síntesis del grupo hemo
Leucín aminopetidasa	Degradación de polipéptidos
Dipeptidasas	Degradación de dipéptidos
Colagenasas	Degradación de matriz extracelular
Carboxipeptidasas A y B pancreáticas	Digestión de las proteínas
ADN polimerasa	Síntesis de ADN
ARN polimerasa	Síntesis de ARN
Timidina quinasa	Síntesis de timidina 5-fosfato
Ribonucleasa	Degradación de ARN
Cu-Zn superóxido dismutasa	Antioxidante citosólico

Fuente: Pechin, 1999

El Zn se encuentra presente en todas las partes del cuerpo del animal, encontrándose en mayor cantidad en el músculo, que representa el 60% del Zn total, seguido de los huesos que representan entre un 20 y un 30%, y el pelo que representa un 8% (Jackson, 1989; Pechín, 1999). El Zn, por tanto, no tiene en el organismo un tejido de reserva de fácil acceso por lo que, si durante la alimentación se produce una baja ingesta en Zn, los mecanismos corporales de regulación no funcionarán adecuadamente, como sucede con otros elementos, apareciendo entonces dicha deficiencia (Mufarrege y Aguilar, 2001).

El Zn se elimina del cuerpo del animal principalmente por las heces y por la orina, estimándose unas pérdidas diarias de 0,033 mg Zn y 0,012 mg Zn respectivamente por kg de peso vivo (Hansard *et al.*, 1968; NRC, 2001), además de las pérdidas por sudor que pueden ser considerables en ciertas regiones del planeta en vacunos y ovinos, pudiendo incluso provocar síntomas de deficiencia aguda (Mufarrege y Aguilar, 2001; Quiles, 2009). Para prevenir estas deficiencias en los animales se recomienda unos niveles de ingesta que



varían entre 50 ppm (base de materia seca, M.S.) en el alimento del ganado vacuno, tanto de carne como de leche (Kirchgeßner *et al.*, 1993; Weiss, 1996), entre 20 y 33 ppm M.S. en el alimento de ovinos (NRC, 1985), y de hasta 50 ppm M.S. en el alimento del porcino (NRC, 1998); mientras que una ingesta excesiva de Zn induce a incrementar la metalotioneína en el intestino (NRC, 2001), presentando problemas en el metabolismo del Cu (Miller *et al.*, 1989). Por tanto, es importante controlar las cantidades de Zn en la dieta de los animales, estimándose unos niveles máximos admisibles de entre 300 y 1.000 mg kg⁻¹ de alimento (Pechin, 1999).

La deficiencia de Zn debida a la baja ingesta del mismo o por unas elevadas pérdidas, tiene su efecto principal en los tejidos de alta velocidad de formación de células y es por eso que su deficiencia perjudica principalmente al crecimiento, a la producción de espermatozoides, a la piel y las pezuñas (Rosa *et al.*, 2008). Sin embargo, en órganos como el páncreas, el hígado, el riñón, el intestino, el pelo y el hueso, el descenso en sus niveles debido a una baja ingesta del mismo, es menos acusado (Miller, 1970; Pechin, 1999). Se puede establecer una serie de síntomas y enfermedades ocasionadas por la deficiencia de Zn en los diferentes animales, concretamente:

- En el ganado vacuno adulto se observa una severa inapetencia, falta de crecimiento y disminución de la fertilidad, especialmente en el macho (Mufarrege y Aguilar, 2001; Rosa *et al.*, 2008). En los terneros, produce retrasos en el crecimiento, decoloración del pelo, alopecia, paraqueratosis (endurecimiento y lesiones abiertas de la piel) en orejas, cuello, hocico, escroto y en la zona posterior de las patas, y tumefacción de tarsos y carpos, además de arqueamiento en las patas traseras y rigidez en las articulaciones (Miller y Miller, 1962). En las vacas lecheras, esta deficiencia produce además afecciones podales (Mufarrege y Aguilar, 2001; Rosa *et al.*, 2008).
- En el ganado ovino, la deficiencia de Zn en los últimos meses de gestación implica, en los casos más severos, la pérdida del feto; mientras que en los corderos se caracteriza clínicamente por anorexia o apetito depravado (comen lana), reducción en la conversión de los alimentos y del crecimiento, tumefacción de los tarsos, piel roja y rugosa, paraqueratosis de la piel sobre las pezuñas y alrededor de los ojos, y debilitamiento del sistema inmunológico (Pechin, 1999; Mufarrege y Aguilar, 2001).



Además de todo lo expuesto, esta deficiencia reduce tanto el peso al nacer como el número de nacimientos (Prasad, 2010).

- En el ganado porcino la adecuada ingesta en Zn tiene efecto directo sobre el crecimiento post-destete y sobre las características seminales del verraco, mejorando su productividad y calidad (Wilt y Carlson, 2009), además de mejorar el sistema inmunológico (Quiles, 2009).
- En las aves la deficiencia de Zn provoca retrasos en el crecimiento, acortamiento y engrosamiento de los huesos de las patas, descamación de la piel, pérdida de apetito, reducción en la producción de huevos, dificultades en el desarrollo embrionario (Bermudez *et al.*, 2012) y anomalías en el desarrollo de las alas (Park *et al.*, 2004), pudiendo ocasionar, en los casos más severos la muerte (Kahn, 2011).

Por tanto, mantener los correctos niveles de Zn en la dieta de los animales se hace fundamental para prevenir y remediar las enfermedades ocasionadas por la deficiencia del mismo.

1.3.3. Importancia en el ser humano.

Las personas requieren 49 nutrientes esenciales para un correcto funcionamiento de su metabolismo (Welch y Graham, 2004) (Tabla 1.3). Por tanto, un consumo inadecuado de algunos de ellos puede ocasionar efectos adversos sobre la salud al provocar enfermedades, además de ocasionar unos altos costes económicos (Grantham-McGregor y Ani, 1999; Ramakrishnan *et al.*, 1999; Welch y Graham, 2004).

El Zn tiene una serie de funciones vitales en los sistemas biológicos, incluyendo la protección de la integridad estructural y funcional de las membranas biológicas, la desintoxicación de los radicales libres de oxígeno altamente tóxicos, el mantenimiento de la expresión génica y la síntesis de proteínas (Coleman, 1992; Marschner, 1995a; Cakmak, 2000). La adecuada concentración de este elemento en los organismos es un requisito fundamental para mantener la estabilidad estructural, la función de muchas proteínas y factores de transcripción, además de ser requerido para mejorar la protección contra las



enfermedades infecciosas como la diarrea y la neumonía, especialmente en países en vías de desarrollo (Andreini *et al.*, 2006; Walker y Black, 2007; Gibson *et al.*, 2008).

Tabla 1.3. 49 elementos esenciales para la vida de las personas.

Agua y Energía	Proteína (aminoácidos)	Lípidos-grasas (ácidos grasos)	Macroelementos	Microelementos	Vitaminas
Agua	Histidina	Ácido linoleico	Na	Fe	A
Carbohidratos	Isoleucina	Ácido linolénico	K	Zn	D
	Leucina		Ca	Cu	E
	Lisina		Mg	Mn	K
	Metionina		S	I	C (ácido ascórbico)
	Fenilalanina		P	F	B1 (tiamina)
	Treonina		Cl	B	B2 (riboflavina)
	Triptófano			Se	B3 (ácido pantoténico)
	Valina			Mo	Niacina
				Ni	B6 (piridoxal)
				Cr	Folato
				V	Biotina
				Si	B12 (cobalamina)
				As	
				Sn	
				Co	

Fuente: Welch y Graham, 2004.

Su deficiencia suele ir acompañada de numerosas enfermedades como desórdenes gastrointestinales, enfermedades renales, VIH y ciertos tipos de cáncer (Hotz y Brown, 2004; Gibson, 2006; Walker y Black, 2007; Alloway, 2008; Benton, 2008; Gibson *et al.*, 2008). En las mujeres embarazadas puede provocar un crecimiento menor de las células cerebrales y afectar al desarrollo del feto; en los niños provoca retraso en el crecimiento, tanto físico como intelectual; en hombres adultos puede inducir una disminución de la fertilidad; y en la población anciana está asociada con trastornos de comportamiento y depresión, conduciendo a una mayor fragilidad e incidencia de enfermedades degenerativas (Salgueiro *et al.*, 2002; Gibson, 2006; Walker y Black, 2007; Benton, 2008; Gibson *et al.*, 2008).

La deficiencia en Zn es considerada como un factor de riesgo para la salud pudiendo, en casos extremos, ocasionar la muerte, ocupando la posición 11^a entre los 20 factores de riesgos que causan enfermedades o muerte en el mundo, y el 5^o factor más importante en los países desarrollados (Cakmak, 2008b). Así, se puede afirmar que esta deficiencia afecta entre un tercio (Hotz y Brown, 2004) a casi la mitad de la población



mundial (Welch y Graham, 2004). Cerca de 450.000 niños menores de cinco años mueren cada año a causa de la deficiencia de Zn (Black *et al.*, 2008). Su incidencia es muy alta en los países asiáticos, donde ocasiona una elevada concurrencia de enfermedades infecciosas y muertes infantiles (Black *et al.*, 2008; Meenakshi *et al.*, 2010). En la India, por ejemplo, se estima que alrededor del 25% de la población indígena se encuentra en riesgo de padecer deficiencia en Zn (Hotz y Brown, 2004), cifra que se eleva al 50% en los niños menores de 5 años (Gragnolati *et al.*, 2005; Black *et al.*, 2008).

Por tanto, debido a la incidencia y gravedad de los efectos de la deficiencia de Zn en el ser humano, ésta ha recibido una gran atención, no sólo por médicos y científicos de la nutrición sino también por los economistas (Hotz y Brown, 2004). El Zn, junto con la deficiencia de vitamina A, ha sido identificado como un problema a escala mundial por un grupo de ocho economistas, entre ellos cinco Premios Nobel, en el Consenso de Copenhague (www.copenhagencensus.com, 2008) en el que se expuso que la eliminación del problema supondría un impacto inmediato para la salud humana en los países en desarrollo.

1.4. Dieta e ingesta de Zn en el mundo, Europa y España

La alimentación es la principal vía de entrada del Zn en los seres humanos. Las recomendaciones nutricionales RDA o IDR (Ingesta Diaria Recomendada) se definen como los niveles adecuados de ingesta de nutrientes considerados esenciales, según el criterio de los comités nacionales e internacionales, que los establecen en base a los conocimientos científicos y que cubren las necesidades conocidas de una persona sana (Martínez, 1996). Así, los valores IDR se fijan en función de la edad, sexo y estado fisiológico (embarazo, lactancia, etc.), siendo normalmente superiores a los verdaderos requerimientos (Martínez, 1996). En la Tabla 1.4 se muestran las ingestas recomendadas de Zn para hombres y mujeres en las diferentes etapas de la vida, observándose como estas necesidades son mayores en las mujeres que en los hombres, sobre todo durante el embarazo y la lactancia, para la prevención de malformaciones y enfermedades.



Tabla 1.4. Ingestas recomendadas de Zn en diferentes etapas de la vida.

Grupo de edad	Zn (mg día ⁻¹)	Grupo de edad	Zn (mg día ⁻¹)
Lactantes		Mujeres	
0-6 meses	2	9-13 años	8
7-12 meses	3	14-18 años	9
Niños		19->70 años	8
1-3 años	3	Embarazo	
4-8 años	5	≤18 años	12
Hombres		19-50 años	11
9-13 años	8	Lactancia	
14->70 años	11	≤18 años	13
		19-50 años	12

Fuente: Rubio *et al.*, 2007.

Existe cierta controversia acerca de las recomendaciones de ingesta entre los diversos organismos internacionales. Mientras que el Departamento de Salud del Reino Unido (1991) establece los niveles adecuados en 7 y 12 mg día⁻¹ para mujeres y hombres sanos respectivamente, el Instituto Internacional de las Ciencias de la Vida (ILSI) (1990) lo estableció para Europa entre 8 y 12 mg kg⁻¹. En España (Varela, 1994), al igual que para Europa (ILSI Europe, 1990; National Research Council Recommended Dietary Allowances, 2001) o Estados Unidos (Food and Nutrition Board, 1989), aceptan como ingesta recomendada 12 mg kg⁻¹ para las mujeres y 15 mg kg⁻¹ para los hombres.

La ingesta media de Zn en el S.E. de España fue estimada en 10,1 mg Zn día⁻¹ por Terrés *et al.* (2001) a partir de los contenidos de Zn en la dieta. Ortega *et al.* (1997) encontraron que el nivel de ingesta en ancianos del S.E. y Centro de España era inferior, con ingestas medias de 10 y 8,3 mg de Zn día⁻¹ en hombres y mujeres respectivamente. En la actualidad, otros autores han establecido valores incluso inferiores, estableciendo que en Extremadura, la ingesta de Zn se estima en aproximadamente 9 mg de Zn día⁻¹ (FEN, 2012) (Figura 1.4). Con estos datos, la ingesta de Zn en España está por debajo del 80% de la IDR en todos los grupos de la población (AESAN, 2011), siendo inferior a las dos terceras partes de la IDR en más del 56% de la población estudiada (Sanchez *et al.*, 2009).

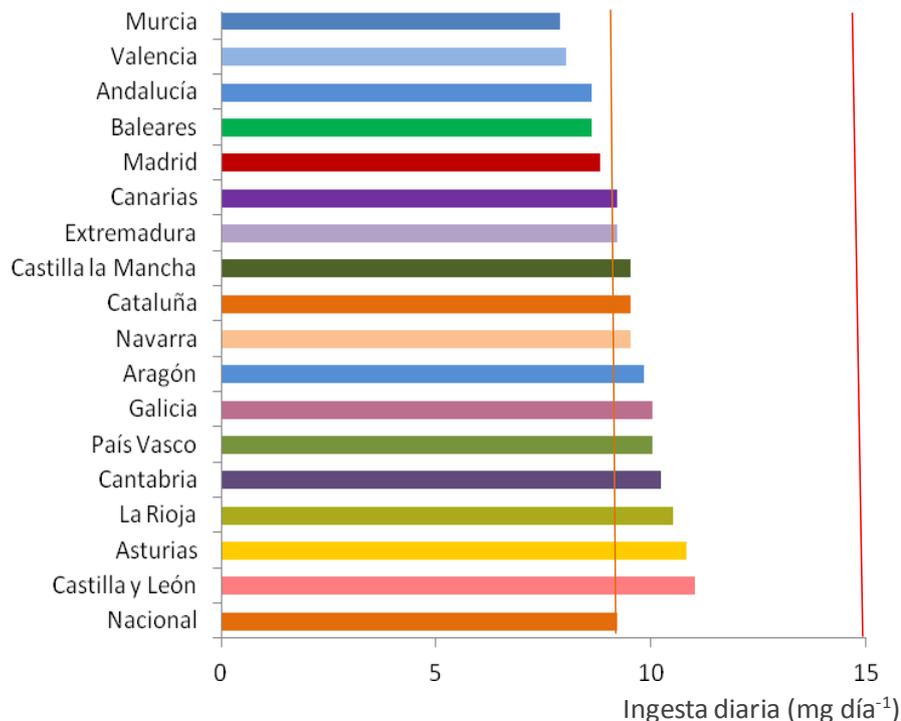


Figura 1.4: Ingesta de Zn ($\text{mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$), por comunidades autónomas. Las marcas indican, en primer lugar, la ingesta media en España, y en segundo lugar la ingesta recomendada en España. Fuente: Fundación Española de la Nutrición (FEN, 2012).

El grado de deficiencia y sus consecuencias se han estimado mediante los Años de Vida Ajustados por Discapacidad (AVAD o DALYs), método que muestra los años perdidos por discapacidad, enfermedad o muerte en la población (IZA, 2004). Así, se estiman unas pérdidas de 28 millones DALYs por la deficiencia de Zn, siendo ésta la segunda causa de DALYs, sólo por detrás de la deficiencia de Fe, las cuales se estiman en 35 millones de DALYs, y por delante de la deficiencia de vitamina A, que se estiman en 26,3 millones de DALYs (Ezzati *et al.*, 2002).

A pesar de que el Zn es el menos tóxico de todos los oligoelementos y que su margen de seguridad (diferencia entre la dosis tóxica y la dosis recomendada) es muy amplio, es necesario evaluar su toxicidad, puesto que existen ciertos trabajos que indican el posible desarrollo de alteraciones como consecuencia de la ingestión de dosis moderadamente elevadas durante períodos de tiempo más o menos largos (Saltzman *et al.*, 1990; Alloway, 2008). Así, dicho umbral puede ser establecido mediante el estudio del nivel máximo admisible de ingesta (UL), que se define como el nivel más alto de ingesta diaria de un nutriente, calculado a partir de la ingesta total, que no supone un riesgo o



aparición de efectos adversos sobre la salud de los individuos (Alloway, 2008). La cantidad máxima tolerada en los alimentos varía entre países, siendo Francia e Italia los países que establecen los niveles más altos mientras que, por el contrario, España y Dinamarca son los menos permisivos con estos niveles máximos (Tabla 1.5). Al igual que para los alimentos, también se han establecido unos niveles máximos tolerables de ingesta (UL) para el agua y para los suplementos alimenticios, estableciéndose en 40 mg día⁻¹ (NRCD, 2001).

Tabla 1.5. Ingesta máxima diaria de Zn recomendada en diferentes países.

País	Cantidad máxima tolerable (mg Zn kg ⁻¹)
Francia	300
Italia	300
Alemania	200
Reino Unido	200
España	150
Dinamarca	100

Fuente: Grath *et al.*, 1994

Como conclusión a este apartado se puede afirmar que existe una deficiencia subclínica, en algunos casos severa, que puede estar afectando, en la actualidad, a un porcentaje elevado de la población española, predisponiéndola a determinados tipos de enfermedades, por lo que la cuantificación y aumento del contenido de Zn en la dieta, así como sus beneficios sobre la salud, son puntos de vital interés para la salud pública (Naciones Unidas, 2010). Para ello sería necesaria una implicación por parte de los organismos públicos internacionales, nacionales y regionales, para realizar un mayor número de estudios, en todas las áreas de conocimiento implicadas, para dilucidar el verdadero alcance de las deficiencias de Zn en la población española y portuguesa, y evaluar las posibles soluciones.

1.5. Contenido de Zn en los alimentos

El Zn está ampliamente distribuido en alimentos y bebidas, pero tal como ocurre con otros elementos, su concentración en el suelo determinará la futura riqueza, tanto en los alimentos vegetales como en los animales (Girling, 1984; Cámara y Amaro, 2003). Los contenidos en Zn son muy variables, siendo los productos de origen marino, principalmente los mariscos (ostras y crustáceos), los alimentos más ricos en Zn, seguidos de las carnes rojas, derivados lácteos, huevos y los cereales integrales (Rubio *et al.*, 2007). Los vegetales, entre los que se incluyen verduras,



frutas y hortalizas, con excepción de las leguminosas, son alimentos que presentan bajos contenidos de Zn (Cámara y Amaro, 2003; Rubio *et al.*, 2007; Dwivedi *et al.*, 2012) aunque, por su alto consumo, representan una elevada proporción en la dieta de determinados grupos de la población. Además de los alimentos expuestos, la col (*Brassica oleracea* L.), el nabo (*Brassica rapa* L.), la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) y el guisante (*Pisum sativum* L.) son los cultivos que mayor cantidad de Zn aportan a la dieta, mientras que el maíz (*Zea mays* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.) ocupan una situación intermedia (Tabla 1.6).

Tabla 1.6. Contenidos de Zn en los principales alimentos, incluyendo cereales y leguminosas en España y en el mundo.

Alimento	Zn (mg kg ⁻¹) ^a	Ingesta diaria (mg persona ⁻¹) ^a	Contribución dieta (%) ^a	Zn (mg kg ⁻¹)	Referencias
Carne	22	2,7	27	25,0 30,3-79,9	Alturiqi y Albedair, 2012; IZA, 2004
Pescado	6,9	0,4	4	8,0	IZA, 2004
Huevos	14,9	0,5	5	13,0	IZA, 2004
Leche y derivados	4,6-25,8	1,9	18	3,9-12,0	IZA, 2004
Frutas	1,5	0,1	1	0,6	IZA, 2004
Hortalizas	3,7	0,6	6	3,9	IZA, 2004
Coliflor	3,3	-	-	8,0-229,0	White y Broadley, 2005a
Nabo	-	-	-	23,0-156,0	Vreugdenhil <i>et al.</i> , 2005
Espinacas	-	-	-	21,0-387,0	Grusak y Cakmak, 2005
Cereales	15,4	2,6	25	9,9	IZA, 2004
-Arroz	17,4	-	-	14,0-58,0	Gregorio <i>et al.</i> , 2000; Welch y Graham, 2002; Vasconcelos <i>et al.</i> , 2003
-Maíz	-	-	-	13,0-58,0	Bäzinger y Long, 2000; Oikeh <i>et al.</i> , 2003
-Trigo	15	-	-	9,9	IZA, 2004
-Pan	11,8	-	-	9,8	IZA, 2004
-Harina	14,3	-	-	-	-
-Espaguetis	17,2	-	-	-	-
-Macarrones	17,9	-	-	-	-
-Galletas	15,5	-	-	-	-
Legumbres	37,4	0,7	7	-	-
-Garbanzo	33,5	-	-	26,0	Thavarajah <i>et al.</i> , 2011
-Lentejas	45,1	-	-	49,0	Thavarajah <i>et al.</i> , 2011
-Guisantes	35,4	-	-	16,0-107,0	Grusak y Cakmak, 2005
-Habas	7,3	-	-	21,0-59,0	Beebe <i>et al.</i> , 2000; Islam <i>et al.</i> , 2002
Agua	0,01	0,5	5	-	-

^aFuente: Terrés *et al.*, 2001



En España, según su panel de consumo (MAPA, 1990; MAGRAMA, 2009), la mayor fuente dietética de Zn la constituyen los alimentos de origen animal, exactamente el 54% del total de la ingesta de Zn, principalmente la carne y sus derivados (27%). Los cereales constituyen la segunda fuente de Zn en la dieta, no tanto por sus contenidos en dicho mineral sino por la gran cantidad de cereales ingeridos diariamente por la población española (25%), mientras que a continuación se sitúa la leche y productos lácteos (18%), las legumbres (7%), las hortalizas (6%) y, por último, las frutas (1%) (Terrés *et al.*, 2001) (Tabla 1.6).

La biodisponibilidad del Zn en los alimentos, es decir, la proporción que del alimento digerido es realmente absorbido y utilizado por los organismos de las personas y animales (Blair, 2013), se encuentra disminuida, tanto en los alimentos de origen animal como en los de origen vegetal, debido a que, en los primeros, el Zn se encuentra asociado principalmente a las proteínas y ácidos nucleicos (Cousins *et al.*, 1991; Barberá y Farré, 1992), y en los segundos, a la presencia de ácido fítico en forma de complejos insolubles que limitan su biodisponibilidad (Rubio *et al.*, 2007).

En cuanto al agua de abastecimiento público, ésta puede contener Zn, como ocurre con el Fe y Cu, provenientes de la disolución de los terrenos y de la degradación de los materiales de las conducciones, aunque estas cantidades estarán limitadas puesto que no se garantiza su origen y además origina una pérdida en la calidad del agua. Así, en la reglamentación técnico sanitaria, en el anexo C del Real Decreto 1138/90, para el abastecimiento y control de las aguas potables de consumo público, se establecía un valor guía de $100 \mu\text{g Zn l}^{-1}$, indicándose que a valores superiores a los $5.000 \mu\text{g Zn l}^{-1}$ pueden aparecer sabores astringentes, opalescencias y depósitos granulosos. Actualmente, éste ha sido derogado por el Real Decreto 140/2003 de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, desapareciendo los umbrales de Zn como criterio sanitario de la calidad del agua de consumo humano.

Como conclusión a este epígrafe, los cereales, alimentos básicos en la dieta de muchos países suponiendo, en muchos casos, entre el 62% y 73% de la ingesta diaria de calorías, podrían ser una importante fuente de Zn en la dieta si se aumentase su contenido, por lo que el estudio para incrementar las concentraciones de Zn en los mismos es muy importante, estableciéndolo por la FAO como el 2º de los ocho objetivos prioritarios de



desarrollo del milenio cuyo objetivo es erradicar la extrema pobreza y el hambre en el mundo (Chatterjee et al., 2006; FAO, 2011a).

1.6. Importancia del trigo harinero

El trigo (*Triticum spp.*) fue uno de los primeros cultivos domesticados hace aproximadamente 8.000 años, y ha sido el alimento básico de las civilizaciones más importantes de Europa, Asia Occidental y África del Norte, ocupando la mayor superficie cultivada con respecto a otros cultivos comerciales, y siendo el cereal que proporciona, a día de hoy, la principal fuente de alimento para los seres humanos (Curtis, 2002; OCDE-FAO, 2013).

Este cultivo es producido para obtener harinas, fuente fundamental de hidratos de carbono en una gran parte del mundo, debido a que su almidón, al igual que la mayoría de sus proteínas, es de fácil digestión, además de contener minerales, vitaminas y grasas (Orth y Shellenberger, 1988; López-Bellido, 2001).

Este cultivo se efectúa con mayor éxito entre las latitudes 30° y 60°N y 27° y 40°S, aunque se ha demostrado que puede crecer más allá de éstas, prácticamente desde el Círculo Polar Ártico hasta las elevaciones más altas cercanas al ecuador (López-Bellido, 2001). Con respecto a la altitud, se cultiva desde el nivel del mar hasta más de 3.000 m, incluso hay información de cultivos de trigo a 4.570 m en el Tíbet (Curtis, 2002).

El trigo se cultiva en aproximadamente 223 millones de hectáreas en el mundo, siendo el cultivo con mayor comercio mundial (USDA, 2014a). La superficie dedicada a este cultivo en la UE-28 en la campaña 2012/13 ascendió a 26 millones de hectáreas, siendo Francia el país que mayor superficie cultivó (5,3 millones ha), seguido de Alemania (3,1 millones de ha) y España (1,8 millones ha) (MAGRAMA, 2014a), mientras que en Portugal la superficie alcanzó las 50.900 ha (Knoema, 2014). Por comunidades autónomas, Castilla y León es la comunidad que más superficie dedica a éste cereal (819.741 ha), seguida de Castilla la Mancha (320.182 ha) y Andalucía (161.998 ha), ocupando Extremadura la 6ª posición en superficie dedicada al trigo (77.575 ha), todos los datos referidos a la campaña 2013 (MAGRAMA, 2014a). Con estos datos cabe señalar que el trigo harinero es el segundo cereal con mayor superficie en España, ocupando el



29% de la superficie de cereales, por detrás de la cebada la cual ocupa el 46% (MAGRAMA, 2014a).

La producción mundial aumentó desde las 555 millones de toneladas en la campaña 2002/03 hasta más de 700 millones de toneladas en la campaña 2013/14 (FAO, 2014; USDA, 2014a), cifra que según la OCDE-FAO (2013) puede incrementarse en un 11% en 2022 bajo condiciones climáticas normales. El destino de esta producción es en un 70% la alimentación humana, dedicándose el restante para la alimentación animal (FAO, 2011b). La producción de cereales en la UE-28 se cifró, en la campaña 2012/13, en 285 millones de toneladas (EUROSTAT, 2014), siendo la producción de trigo harinero de 134 millones de toneladas en la campaña 2012/13 y la UE-28 el principal grupo de países productores del mundo, por delante de China (MAGRAMA, 2014a; USDA, 2014b). En Portugal, ésta producción se cifró en 75.000 toneladas (EUROSTAT, 2014), mientras que en España, se situó en, aproximadamente, 7 millones de toneladas en 2013/14, siendo Castilla y León la principal productora, con aproximadamente 3,3 millones de toneladas, seguida de Castilla la Mancha, con aproximadamente 1 millón de toneladas y Aragón con 0,6 millones de toneladas, ocupando Extremadura la 7ª posición, con 0,2 millones de toneladas (MAGRAMA, 2014a). Con estos datos, es importante destacar que en España la producción de trigo es el 27% de la producción total de cereales, por detrás de la cebada, que representa el 42%, estimándose la producción total de cereales en 2013 de España en 24,3 millones de toneladas (MAGRAMA, 2014a).

España presenta una balanza comercial para el trigo negativa, al igual que en el resto de cereales excepto para el trigo duro, ascendiendo el volumen de las importaciones a 4,2 millones de toneladas frente a las 0,7 millones de toneladas que suponen las exportaciones. Tanto el origen como el destino de la mayoría de las mismas, fueron países de la Unión Europea en la campaña 2012/13 (MAGRAMA, 2014a), por lo que incrementar la producción y calidad del mismo resultaría imprescindible para garantizar el correcto abastecimiento, la menor dependencia del exterior así como para asegurar una alimentación de calidad a la población europea.

La estructura industrial de la industria harinera en España se situó, en 2013, en 120 fábricas, situadas, en un 80%, próximas a zonas rurales cerealistas, con una capacidad de transformación próxima a los 4 millones de toneladas al año (Belenguer, 2008; AFHSE,



2014). Con respecto al tamaño de las mismas, cabe decir que éstas son pymes familiares, con una facturación media próxima a los 10 millones de euros, con aproximadamente 15 trabajadores por fábrica y un volumen total próximo a los 3.000 empleados (Belenguer, 2008; AFHSE, 2014). La evolución más reciente muestra que el número de industrias harineras en España ha seguido en progresiva disminución, puesto que en 2004 se situaba en 196 industrias (AFSH, 2014). Estos ceses de actividad han tenido lugar en fábricas de menor tamaño como consecuencia del aumento de la capacidad productiva de aquellas que seguían en activo (AFSH, 2014). La producción de estas industrias está centrada en la venta a industrias de segunda transformación, suponiendo sólo el 1% de la producción final la venta de harina para el consumidor final (Belenguer, 2008).

El gasto de los españoles en productos transformados a partir de la harina es superior al 10% del gasto alimentario total (Belenguer, 2008), siendo el gasto en pan el 5,7% del total de la cesta de la compra, es decir 3.946 millones de euros (MAGRAMA, 2014b) por lo que el sector tiene una dimensión estratégica mayor que la de su propia facturación (Belenguer, 2008).

El consumo per cápita a nivel mundial ha variado en el tiempo, pasando de 55 kg por persona y año, en el periodo 1961-63, hasta los 67,5 kg persona y año en 2011 (FAO, 2004; FAO, 2011b). En España, el consumo de trigo se encuentra muy cercano al consumo medio mundial, con un consumo de 66,9 kg por persona y año (MAGRAMA, 2014a), es decir, entre 120 y 185 gramos por persona y día (Fundación Española de la Nutrición, 2007; FAO, 2004; FAO, 2011b) mientras que en Portugal el consumo de este cereal es muy similar, con un consumo de 150 g por persona y día (SHEFM, 2006; Ventura, 2009).

*Para que la deficiencia en Zn sea corregida, cualquier estrategia para incrementar los niveles del micronutriente considerado en el organismo, deberá ser llevada a cabo sobre cultivos que den lugar a productos de consumo diario o muy frecuente, tanto en la alimentación de las personas como en la alimentación animal, si van a formar parte de formulaciones en piensos compuestos (Rengel et al., 1999; Welch y Graham, 2004; Cakmak, 2008; White y Broadley, 2009; Bouis y Welch, 2010). En este sentido, sería muy buen candidato el trigo harinero (*Triticum aestivum* L.), cereal de gran importancia en los países del área mediterránea, cuyo fin, en su mayoría, es la alimentación humana.*



1.6.1. Niveles de Zn en el grano de trigo.

Los niveles de Zn en el trigo varían entre las diferentes especies, siendo *Triticum dicoccoides* el que mayor contenido de Zn en grano presenta, seguido del trigo duro (*Triticum durum* L.), mientras que las variedades de trigo harinero más antiguas presentan mayores contenidos de Zn en grano (Tabla 1.7). Como media, los contenidos de Zn en el grano de trigo harinero están comprendidos entre los 20 y los 35 mg kg⁻¹ (Rengel *et al.*, 1999; Cakmak *et al.*, 2004).

Tabla 1.7. Concentraciones de Zn en el grano de las especies del género *Triticum ssp.*

	Ensayo	Zinc (mg kg ⁻¹)	Bibliografía
<i>Triticum aestivum</i> L.		26-34	Garvin <i>et al.</i> , 2006
	Colección	13-39	Morgounov <i>et al.</i> , 2006
		21-35	Murphy <i>et al.</i> , 2008
	Colección variedades histórica	33,9	Murphy <i>et al.</i> , 2008
	Colección variedades moderna	27,2	Tang <i>et al.</i> , 2008
<i>Triticum durum</i> L.	Colección	29-46	Ficco <i>et al.</i> , 2009
	Campo	34-63	Welch, 2001
<i>Triticum dicoccoides</i>	Campo	30-98	Cakmak <i>et al.</i> , 2004
	Invernadero	14-190	Cakmak <i>et al.</i> , 2004
	Hidropónico	33-149	Welch y Graham, 2005

La concentración de Zn en el grano se encuentra directamente relacionada con el contenido del mismo en el suelo y su disponibilidad, disminuyendo cuando la cantidad de Zn total en el suelo y/o su disponibilidad es baja, como ocurre en la región mediterránea y en gran parte del mundo (Cakmak *et al.*, 2004). Un ejemplo de ello son las concentraciones de Zn en el grano en Turquía, en las que en suelos con niveles de Zn adecuados (1-5 mg Zn-extraíble kg⁻¹) su contenido en el trigo varió entre 20 y 30 mg kg⁻¹, mientras que en suelos deficientes de Zn (< 1 mg Zn-extraíble kg⁻¹) los valores oscilaron entre 5 y 12 mg kg⁻¹ (Kalayci *et al.*, 1999; Erdal *et al.*, 2002).

El rápido aumento de la población mundial en los últimos años, unido a las deficientes condiciones alimentarias de una gran parte de la población y el cambio climático, han hecho saltar todas las alarmas. Según la ONU, en su informe UNFPA-2013,



la población mundial ha pasado de 2.500 millones de personas en 1950 a 5.000 millones en 1987, alcanzando la cifra de 6.000 millones en 1.999 y de 7.000 millones de personas en la actualidad. Las previsiones son, que para 2020, la población supere los 7.500 millones y en 2050 alcance los 9.000 millones de personas (UNFPA-2013). Ante estas cifras y las bajas concentraciones de Zn en los alimentos, es fundamental resaltar la necesidad de producir alimentos, especialmente cereales, de alta calidad nutricional, al ser consumidos como alimentos básicos en la gran mayoría de los países en vía de desarrollo, así como por el repunte en su consumo en países desarrollados durante los últimos años (Cakmak, 2008b).

1.7. Estrategias de remediación.

Existen diversas estrategias para incrementar la ingesta de Zn (Tabla 1.8) como son: la diversificación de la dieta; la ingesta de alimentos ricos en Zn (carnes y pescados); la ingesta de suplementos alimenticios; la adición de Zn a los alimentos en el procesado de los mismos; y la biofortificación o incremento de las concentraciones de este elemento en las partes comestible de los alimentos (Lyons *et al.*, 2003 y 2005). La opción de mantener una cantidad recomendada de Zn en la alimentación mediante una dieta diversificada, con un adecuado consumo de carne, pescado, frutas, legumbres y vegetales, aunque sería la solución ideal, resulta muy complicada de alcanzar, sobre todo en países en vías de desarrollo o en zonas muy deficientes en Zn, como es el caso de la zona mediterránea (Alloway, 2008). En cuanto a la suplementación, esta sería efectuada con productos inorgánicos que presentan una menor bioasimilación por parte del organismo que los productos orgánicos, siendo poco efectivos en el aumento de sus contenidos en sangre (Hart *et al.*, 2011), además del coste económico, no siendo asumible en numerosas regiones del planeta. Es más, se ha asociado un elevado consumo de suplementos con Zn con el aumento de padecer cáncer de próstata, así como el incremento de los niveles de testosterona, colesterol, disminución del metabolismo del cobre y alteración de la respuesta inmune (Bodgen, 2004; Moyand, 2004; Willis *et al.*, 2005; IoM, 2005; Department of Health, 2007). Por tanto la biofortificación, o aumento de estos nutrientes en los vegetales mediante diferentes técnicas, sería una estrategia muy apropiada para incrementar los niveles de este micronutriente en la cadena trófica.



Tabla 1.8. Estrategias de remediación de Zn, alcance y coste económico.

Intervención	Alcance	Coste económico
Suplementación: Mediante pastillas minerales como tratamiento químico	Especialmente recomendado durante el embarazo o en casos severos de deficiencia de Zn durante cortos periodos de tiempo	Costoso y sólo recomendable donde se requiera una respuesta rápida
Fortificación: adición de Zn a los alimentos para incrementar la concentración del mismo	Efectivo pero limitado a áreas urbanas	Antieconómico si persiste durante largos periodos de tiempo
Alimento: Diversificación/modificación: Cambios en la selección de alimentos, procesado y cocinado desde el punto de vista nutricional	Aplicable donde exista alternativas en los productos alimentarios (no se cumple en las áreas rurales de países desarrollados)	Económicamente factible y sostenible
Biofortificación: Incremento de las concentraciones biodisponibles de micronutrientes en las porciones comestibles e las plantas a través del manejo de los cultivos y cultivares	Dirigido a áreas rurales de países desarrollados y alcanzable por países en vías de desarrollo donde los alimentos fortificados o la suplementación no puede ser satisfactoriamente desarrollada	Económicamente viable y presenta un aprovechamiento sostenible. Supone un valor añadido a la producción por el incremento de Zn en los suelos y es una solución permanente al problema

Fuente: FAO/WHO, 1998; White y Broadley, 2005a; Stein *et al.*, 2007; Bouis y Welch, 2010; citado por Hussain *et al.*, 2010.

La llamada “*revolución verde*” se centró en la productividad sin tener en cuenta la calidad nutricional (Dwivedi *et al.*, 2012). Esto originó una pérdida en las concentraciones minerales con respecto a variedades más antiguas, incluyendo el cultivo del trigo (Garvin *et al.*, 2006; Fan *et al.*, 2008; Murphy *et al.*, 2008). De esta forma, Davis (2009) demostró que en los cultivos modernos, la búsqueda de variedades más productivas, ha disminuido el valor nutricional, presentando una relación inversa con la producción de semillas debido al llamado *efecto de dilución genética*. Por dichos motivos, cabe señalar la biofortificación genética o incremento de la concentración de Zn en las partes comestibles del cultivo a través de la selección o el mejoramiento, que dependerá de la variabilidad genética existente; y la biofortificación agronómica o incremento de la concentración de Zn en las partes comestibles de las plantas a través de la fertilización (White y Broadley, 2005a; Hawkesford y Zhao 2007; Zhu *et al.*, 2007; Broadley *et al.*, 2010). La biofortificación genética en Zn ha sido mostrada como una estrategia viable desde el punto de vista económico (Cakmak, 2008). Sin embargo, en regiones con una baja disponibilidad de Zn en los suelos, la mejora genética debe ser combinada con la biofortificación agronómica



para conseguir una técnica mucho más eficaz y eficiente para producir cultivos con contenidos adecuados de Zn que permitan alcanzar los niveles de ingesta deseables en la población (White y Broadley, 2005; Cakmak, 2008; Alloway, 2009).

1.7.1. Biofortificación genética

La variabilidad genética, bien sea aprovechando la variabilidad natural o provocándola mediante diversas técnicas, respecto al contenido de nutrientes de las plantas, es la premisa fundamental para incrementar el contenido de minerales y vitaminas en los programas de mejora (Sánchez-Monge, 1993; Welch, 2002; Gelin *et al.*, 2007; Cakmak, 2008b). Las estrategias de biofortificación genética se han centrado en la obtención de variedades con altas concentraciones de micronutrientes y bajas de antinutrientes (White y Broadley, 2005a), en el incremento de sustancias que promuevan su absorción desde la rizosfera (Bouis, 2003; Fico *et al.*, 2009; Velu *et al.*, 2014), así como su posterior translocación y acumulación en los tejidos comestibles (White y Broadley, 2005a; Davies, 2007; Puig *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007).

La obtención de dichos incrementos puede ser llevada a cabo a través de programas de mejora clásica o convencional, basados en la aplicación de los principios genéticos clásicos relativos al fenotipo o características físicas del organismo en cuestión, introduciendo en los cultivares características procedentes de variedades domesticadas, silvestres o de mutantes por cruzamiento convencional, en el que cada progenitor lega a los descendientes la mitad de su estructura genética, transmitiéndose características no deseadas que serán eliminadas a través de sucesivas generaciones de mejoramiento (FAO, 2004); o a través de la creación de cultivares transgénicos, que consiste en cultivares en los que su estructura genética ha sido modificada mediante transgénesis o transferencia de ADN de un organismo o célula a otro, sin que haya reproducción sexual, incorporándolo en el genoma del hospedante o modificando un gen del hospedante, con el fin de cambiar su nivel de expresión (FAO, 2004). Ésta última opción ha originado un gran rechazo por gran parte de los consumidores.

Por un lado, Cakmak *et al.* (1999) describieron las características morfológicas y fisiológicas de los diferentes cultivares involucrados en la acumulación de Zn en las



plantas, y que pueden, por tanto, ser utilizadas en los programas de mejora genética, siendo estas:

- Un menor crecimiento del sistema radicular y de los tallos bajo condiciones deficientes de Zn se considera un síntoma visible de deficiencia (Rengel *et al.*, 1998; Rengel and Römheld, 2000).
- Liberación de fitosideróforos desde las raíces bajo condiciones deficientes de Zn (Zhang *et al.*, 1989; Hopkins *et al.*, 1998; Rengel y Römheld, 2000). La liberación de estas sustancias es proporcional al estrés que somete dicha deficiencia a la planta (Cakmak *et al.*, 1994b; Walter *et al.*, 1994; Rengel *et al.*, 1998; Rengel y Römheld, 2000), provocando una mayor absorción y movilización del Zn desde la rizosfera (Treeby *et al.*, 1989; Erenoglu *et al.*, 1996; Cakmak *et al.*, 1994a, 1996d), pudiendo ser trasladado como complejo fitosideróforo a aquellos sitios de la planta donde exista una alta demanda (Welch, 1995).
- Mayor capacidad de absorción del Zn por las raíces y translocación a la parte aérea (Cakmak *et al.*, 1996b; Rengel y Graham, 1996).
- Mayor capacidad de acumulación de Zn en brotes o en granos, al estar correlacionado el contenido total en el brote (Zn acumulado) con la susceptibilidad de las plantas a esta deficiencia (Cakmak *et al.*, 1996d).
- Utilización eficiente de este elemento en los tejidos o a nivel celular (Cakmak *et al.*, 1999).
- Menor acumulación de ácido fítico ya que la biodisponibilidad de Zn es más baja en los alimentos con altos contenidos en ácido fítico (o fitatos) y fibra (Welch, 1993; Cakmak *et al.*, 2009a).

Por otro lado, las estrategias transgénicas actualmente utilizadas para incrementar las concentraciones de Zn en el grano, se centran en:

- La expresión conjunta de aquellos genes involucrados en la captación de Zn y su translocación a través de la planta, incrementando así las concentraciones de estos elementos en las partes comestibles (White y Broadley, 2005a). En el grano de trigo, las concentraciones de Zn pueden ser incrementadas por la expresión ARN



interferente (ARNi) que acelera la senescencia e incrementa el movimiento de elementos minerales de las hojas hacia el grano (Uauy *et al.*, 2006).

- El aumento de la biodisponibilidad de Zn en los alimentos, centrándose en la reducción de las concentraciones de antinutrientes, tales como el oxalato, polifenoles y fitatos, y en el incremento de las concentraciones de sustancias promotoras, como el ascorbato, β -caroteno y polipéptidos ricos en cisteína (Kopsell y Kopsell, 2006; Davies, 2007; Zhu *et al.*, 2007).

1.7.2. Biofortificación agronómica

La biofortificación agronómica se puede definir como el proceso de incrementar la concentración de elementos esenciales en la parte comestible de los productos cosechados mediante intervención agronómica (White y Broadley, 2005a). Esta estrategia sólo se puede llevar a cabo si la deficiencia mineral en el grano refleja la ausencia de este mineral en el suelo, y si el fertilizante contiene minerales que sean movilizados de forma fácil y rápida (White y Broadley, 2005; Broadley *et al.*, 2007; Cakmak, 2008). En este sentido, el Zn es un exitoso candidato a la intervención agronómica por fertilización mineral al cumplir los requerimientos principales: i) la existencia de un fertilizante móvil y fácilmente absorbible por la planta, como es el sulfato de zinc (ZnSO_4); y ii) que el Zn se acumula en las partes comestibles, en los casos de cereales y leguminosas (Shuman, 1998; Broadley *et al.*, 2007; Cakmak, 2007; Velu *et al.*, 2014). Por último, para que un programa de biofortificación se considere como exitoso, el incremento en la concentración de Zn en el grano debe ser de al menos 10 mg Zn kg^{-1} , y obtener unos contenidos de Zn en el grano de al menos 45 mg Zn kg^{-1} (Pfeiffer y McClafferty, 2007).

En cuanto a la forma de aplicación, numerosas investigaciones se han desarrollado, llegando a las siguientes conclusiones:

- Aplicación al suelo: es la forma de incrementar, de forma más notable, la producción de grano (Yilmaz *et al.*, 1997; Hussain *et al.*, 2012), así como la producción de biomasa (Yilmaz *et al.*, 1997). De acuerdo con estudios de diversos autores, esta forma de aplicación puede incrementar la producción de grano hasta aproximadamente un 260% (Yilmaz *et al.*, 1997; Cakmak *et al.* (2008), la de biomasa en un 109% y la concentración



de Zn en el grano hasta un 180% en suelos con deficiencia extrema de Zn de la Anatolia (Turquía) (Yilmaz *et al.*, 1997; Cakmak, 2008).

- Aplicación a la semilla: es otra forma de incrementar notablemente la producción pero, por el contrario, no produce incremento en la concentración de Zn en el grano debido principalmente al efecto de dilución del Zn en los tejidos (Rengel y Graham, 1995b; Yilmaz *et al.*, 1997). Así, se ha reportado un incremento de la producción de hasta un 204% en suelos con deficiencia extrema de Zn de la Anatolia (Turquía) (Yilmaz *et al.*, 1997; Cakmak, 2008).

- Aplicación foliar: esta forma de aplicación se ha postulado como una práctica efectiva en el incremento del contenido de Zn en el grano, tanto en suelos con contenidos normales como en suelos deficientes en Zn (Cakmak *et al.*, 2008; 2010a; Zhang *et al.*, 2012), con aumentos de hasta un 270% en suelos con deficiencia extrema de Zn de la Anatolia (Turquía) (Yilmaz *et al.*, 1997; Cakmak, 2008).

- Aplicación suelo y foliar: al combinar las dos formas de aplicación se aumenta por un lado la producción en grano, cifrado hasta en un 250% (Yilmaz *et al.*, 1997; Hussain *et al.*, 2012), siendo además la forma que mayor incremento de la concentración de Zn obtiene, con un incremento del 350% (Yilmaz *et al.*, 1997) en suelos con deficiencia de Zn extrema de la Anatolia (Turquía), por lo que es una solución práctica para incrementar la producción y la concentración de Zn en el grano.

- Aplicación a las semillas y foliar: Esta forma de aplicación incrementa la producción de forma notable (Yilmaz *et al.*, 1997; Hussain *et al.*, 2012), con valores similares a la aplicación al suelo, y suelo combinada con foliar, produciendo un incremento en la concentración de Zn en grano de hasta el 290% (Yilmaz *et al.*, 1997).

Por tanto, la mayor producción de biomasa se produce por la aplicación de Zn a las semillas o de la aplicación al suelo en la siembra, indicando la importancia que tiene éste durante la germinación y el desarrollo inicial de las plantas, pudiendo ser una práctica eficaz a la hora de aliviar la disminución de las producciones debido a las condiciones deficientes de este elemento en el suelo. Al mejorar el estado nutricional del Zn en las plantas se incrementa la resistencia y el vigor de las mismas debido a que las plantas



deficientes en Zn son muy sensibles a enfermedades por hongos patógenos en las raíces (Graham y Webb, 1991; Cakmak *et al.*, 1999), al exudar mayores cantidades de varios compuestos orgánicos que crean un ambiente favorable para el desarrollo de las mismas (Cakmak y Marschner, 1988; Sparrow y Graham, 1988; Thongbai *et al.*, 1993; Cakmak *et al.*, 1999). Además, hay que destacar el efecto residual de estos fertilizantes, obteniéndose como resultado una persistencia de varios años (Martens y Westermann, 1991), alcanzando una duración entre 4 y 7 años, aunque sólo permanezca de forma efectiva durante aproximadamente 2 y 3 años (Cakmak *et al.*, 1999).

Con respecto al momento de aplicación de Zn, diversos autores han llegado a la conclusión de que el momento en el que se obtiene el mayor incremento en la producción es durante el periodo vegetativo, y que la mayor acumulación de Zn en el grano se produce cuando la aplicación se realiza en la fase reproductiva (Ozturk *et al.*, 2006; Hussain *et al.*, 2012; Velu *et al.*, 2014), debido a la existencia de un transporte significativo de Zn en el floema desde las raíces, los tallos y las hojas inferiores (Pearson y Rengel, 1994 y 1995; Haslett *et al.*, 2001). Por todo ello, se puede afirmar que el Zn presenta una alta movilidad en el floema (Pearson y Rengel, 1994 y 1995; Marschner, 1995a; Haslett *et al.*, 2001; Dwivedi *et al.*, 2012). Diversas dosis han sido probadas con sulfato de Zn ($ZnSO_4$) en diferentes estados de desarrollo. Así, la Tabla 1.9 muestra las cantidades probadas por diversos autores en diversas localizaciones.

Tabla 1.9. Dosis de aplicación en diversos estudios realizados en diferentes lugares del mundo.

Suelo ($kg\ ha^{-1}$)	Foliar ($kg\ ha^{-1}$)	Localización	Referencia
5-30	-	Pakistán	Khan <i>et al.</i> , 2008
2,5-22	-	-	Alloway, (2002); Sadeghzadeh, 2013
50	-	China	Wang <i>et al.</i> , 2012
-	4	China	Wang <i>et al.</i> , 2012
50	4	China	Wang <i>et al.</i> , 2012
-	2,5x3	China	Xi-Wen <i>et al.</i> , 2011
50	-	China	Zhang <i>et al.</i> , 2012
-	1,2	China	Zhang <i>et al.</i> , 2012
-	2,4	China	Zhang <i>et al.</i> , 2012
-	3	China	Zhang <i>et al.</i> , 2012
0	-	China	Zhao <i>et al.</i> , 2011
7,5	-	China	Zhao <i>et al.</i> , 2011
15	-	China	Zhao <i>et al.</i> , 2011



Un factor muy importante a tener en cuenta es el momento de la aplicación foliar de Zn debido a que, al ser una sal, su aplicación deberá realizarse en días nublados y sin precipitación, presentando en determinadas situaciones, dificultades debido a las condiciones climáticas. La aplicación en días soleados puede ocasionar la aparición de quemaduras en las hojas banderas de las plantas (Couretot *et al.*, 2011), siendo esta hoja considerada como la principal para el llenado del grano al proceder de ella gran cantidad de los fotoasimilados que se encuentran en el grano (Gebbing y Schnyder, 1999).

Por todo ello, la biofortificación con Zn ha sido probada con éxito en todo el mundo por numerosos investigadores como Rengel y Graham (1995b), Yilmaz *et al.* (1997), Cakman *et al.* (1999), Fontanetto *et al.* (2006) en países como Australia, India, Pakistán, Suiza, Turquía, Estados Unidos o Argentina. Como ejemplo de biofortificación agronómica, está el caso de la región de la Anatolia Central de Turquía, donde se produce aproximadamente el 45% del trigo del país, y en la que se han obtenido incrementos en el rendimiento en trigo de más del 400% con tratamientos de fertilización con Zn aplicado como ZnSO₄ en el lecho de siembra. Con el trabajo de Cakmak (2008), varias empresas nacionales de fertilizantes en Turquía comenzaron a fabricar abonos compuestos de Nitrógeno-Fósforo y Nitrógeno-Fósforo-Potasio con un 1% de Zn mezclados. Otro ejemplo de éxito es el programa Harvestplus (www.harvestplus.org), que lleva a cabo ensayos de biofortificación con Zn en diferentes programas de mejora genética en distintos países como Pakistan (trigo biofortificado con Zn), India (mijo, trigo y arroz biofortificado con Fe y Zn), y Bangladesh (trigo biofortificado con Zn y Fe) (HarvestPlus, 2014).

Incrementar el contenido de Zn en el grano de cereales presenta como objetivo fundamental mejorar el estado nutricional y la salud de las personas, así como de animales y plantas. De ésta forma, existirán dos formas de alcanzar dicho objetivo: mediante la biofortificación agronómica, es decir, mediante la aplicación de fertilizantes a base de sulfato de Zn en diferentes formas de aplicación y estados fisiológicos de las plantas, o mediante la biofortificación genética con la elección de variedades eficientes que incrementen el contenido del mismo en el grano al obtener un mejor aprovechamiento de los elementos minerales existentes en la solución del suelo. La combinación de ambas podría permitir seleccionar, principalmente en suelos deficientes en Zn, aquellas variedades que mejor aprovechen los tratamientos con este fertilizante (Cakmak *et al.*,



2008) siendo, por tanto, prácticas perfectamente complementarias (Cakmak, 2008a; White y Broadley, 2009).

Una vez que estos cultivares eficientes sean cultivados y aceptados por los agricultores y consumidores finales, siendo una ventaja añadida que los productos obtenidos mediante biofortificación son potencialmente aceptados por la población (Nestel *et al.*, 2006), pueden constituir una prometedora solución al problema a corto plazo.

Una forma de alentar a los agricultores a practicar la biofortificación sería que vieran compensado el incremento de coste que le supondría una fertilización adicional. Esto se podría hacer, bien implicando a las autoridades para que, a través de subvenciones, y en aras de un interés de salud pública, pagaran compensaciones a los agricultores que introdujeran estos micronutrientes en la fertilización; o bien si se consiguiera que el consumidor estuviera dispuesto a pagar mayores precios en estos productos ‘funcionales’ o ‘enriquecidos con nutrientes’, para que parte de esos incrementos llegaran a los agricultores y estuvieran dispuestos a hacerlo. La deficiencia de micronutrientes en los países más afectados, en las que tanto la deficiencia de Fe como la de Zn son las más importantes, supone un coste económico del 5% del Producto Interior Bruto (PIB) del país, mientras que el coste de la biofortificación se cifra en el 0,3% del PIB, presentando una relación coste beneficio próxima a 20 (Enriching, 1994; Boccio y Bressan Monteiro, 2004), por lo que es una estrategia económica para paliar dicho problema. Muchas compañías y asociaciones agrícolas podrían utilizar esta información para saber cuánto y cuándo aplicar qué producto y de qué forma.

La novedad del presente trabajo es que se combina la biofortificación genética, mediante la mejora tradicional, con la biofortificación agronómica para encontrar las variedades con mayor capacidad de absorción de los fertilizantes con Zn y acumulación en el grano, con el fin último de mitigar los problemas derivados de la deficiencia de Zn en plantas, animales y por supuesto, en las personas.



1.7.2.1. Biofortificación agronómica con Zn y nitrógeno.

La aplicación de nitrógeno (N) es una de las prácticas de manejo más ampliamente extendida en la agricultura y parece ser una prometedora estrategia para mejorar la eficiencia en la biofortificación agronómica con Zn. Recientes estudios han demostrado que un adecuado aporte de N puede incrementar de forma efectiva la acumulación de Zn en el grano de trigo (Shi *et al.*, 2010; Kutman *et al.*, 2011a; Gooding *et al.*, 2012; Xue *et al.*, 2012 y 2014). El efecto positivo del N en la acumulación de Zn en el grano está directamente relacionado con la disponibilidad del Zn, ya sea de forma natural en el suelo o incrementándolo por un aporte extra de Zn (Kutman *et al.*, 2010). La explicación se debe a que se aumenta la cantidad de proteínas transportadoras y quelantes nitrogenados, estando éstos implicados en la captación y translocación del Zn al grano (Uauy *et al.*, 2006; Cakmak *et al.*, 2010a). Aun así, el Zn puede quedar retenido en forma de proteínas en el complejo de Zn, no pudiendo ser trasladado al grano (Alloway, 2008). La mayoría de los estudios efectuados en relación a la fertilización con N y la acumulación de Zn en el grano han sido efectuados en cultivos hidropónicos o en invernaderos, utilizando un solo cultivar, existiendo poca información acerca de los efectos interactivos de la mejora de variedades y la aplicación combinada de Zn y N, con el objetivo último de enriquecer los granos de trigo con Zn. Por todo ello, la aplicación de fertilizantes nitrogenados ha incrementado el contenido de Zn (Kutman *et al.*, 2010; Aciksoz *et al.*, 2011; Erenoglu *et al.*, 2011) y proteína en el grano en los cultivos hidropónicos y de invernadero, existiendo una correlación positiva entre ambos (Peleg *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009). Prasad *et al.* (2013) demostraron, en un experimento desarrollado en la India con trigo harinero, que tanto la producción de grano como su contenido en Zn aumentaron con la fertilización combinada de sulfato de zinc con urea en 19,1% y 51,1% respectivamente, debido a que la aplicación de N, ya sea foliar o pulverizado sobre la superficie del suelo, produjo una mayor captación por las raíces, un mayor transporte y posterior acumulación del Zn en el grano (Kutman *et al.*, 2010; Aciksoz *et al.*, 2011), al incrementar la actividad y acumulación de proteínas transportadoras de Zn en la planta (Cakmak *et al.*, 2010a y 2010b). Un factor fundamental a tener en cuenta es la acidez de estos fertilizantes, tales como nitrato amónico y sulfato amónico, debido a que pueden acidificar el suelo y por ende disminuir la disponibilidad del Zn (Alloway, 2008).



A pesar del gran efecto encontrado existen muy pocos estudios en condiciones de campo y con varios cultivares a la vez, y mucho menos bajo las irregulares condiciones del clima semiárido mediterráneo. Por todo ello, las conclusiones obtenidas de este ensayo son, a priori, muy prometedoras.



2. Objetivos



Con el fin último de incrementar la ingesta de Zn en la población de la Península Ibérica y por ende mejorar su salud, se evaluó el potencial de diferentes cultivares de trigo harinero para ser utilizados en programas de biofortificación agronómica en Zn bajo condiciones semiáridas mediterráneas, y promocionar dichos alimentos como “*alimentos funcionales*”. Los objetivos específicos de este proyecto se pueden enumerar en:

Objetivo 1:

Interacción de biofortificación genética, estudiando 13 cultivares, de los cuales 10 son líneas avanzadas del programa de mejora genética del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias y Veterinarias de Portugal (INIAV) y tres son variedades comerciales, con la agronómica, mediante distintas aplicaciones de Zn, y su efecto en:

- La toma y posterior acumulación de Zinc en el grano de los cultivares de trigo harinero estudiados.
- La fisiología del cultivo, rendimiento, componentes del rendimiento, principales parámetros de calidad de trigo harinero e interacción sobre diferentes macro y micronutrientes.

Objetivo 2:

Sustitución de una dosis foliar de Zn fertilizante foliar, por la aplicación combinada de Zn y N foliar en antesis sobre seis cultivares, de los cuales cuatro son líneas avanzadas del INIAV y dos son variedades comerciales, y su efecto en:

- La toma y posterior acumulación de Zinc en el grano de los cultivares de trigo harinero estudiados.
- Rendimiento, componentes del rendimiento y principales parámetros de calidad de trigo harinero.



3. Material y métodos



3.1. Localización del experimento

El experimento de campo fue realizado en la finca “*Herdade da Comenda*”, terrenos pertenecientes a la Dirección Regional de Agricultura del Alentejo del Ministerio de Agricultura de Portugal, y en el que se desarrollan experimentos por parte de la Unidad de Recursos Genéticos, Ecofisiología y Mejora de Plantas (URGEMP) del Instituto Nacional de Investigaçã Agraria e Veterinaria (INIAV-EMP) situado en Elvas, Portugal. La zona donde se encuentra el ensayo presenta una altitud de 220 m sobre el nivel del mar, con las coordenadas 38° 53' 29'' N y 7° 2' 25'' O (Figura 3.1).

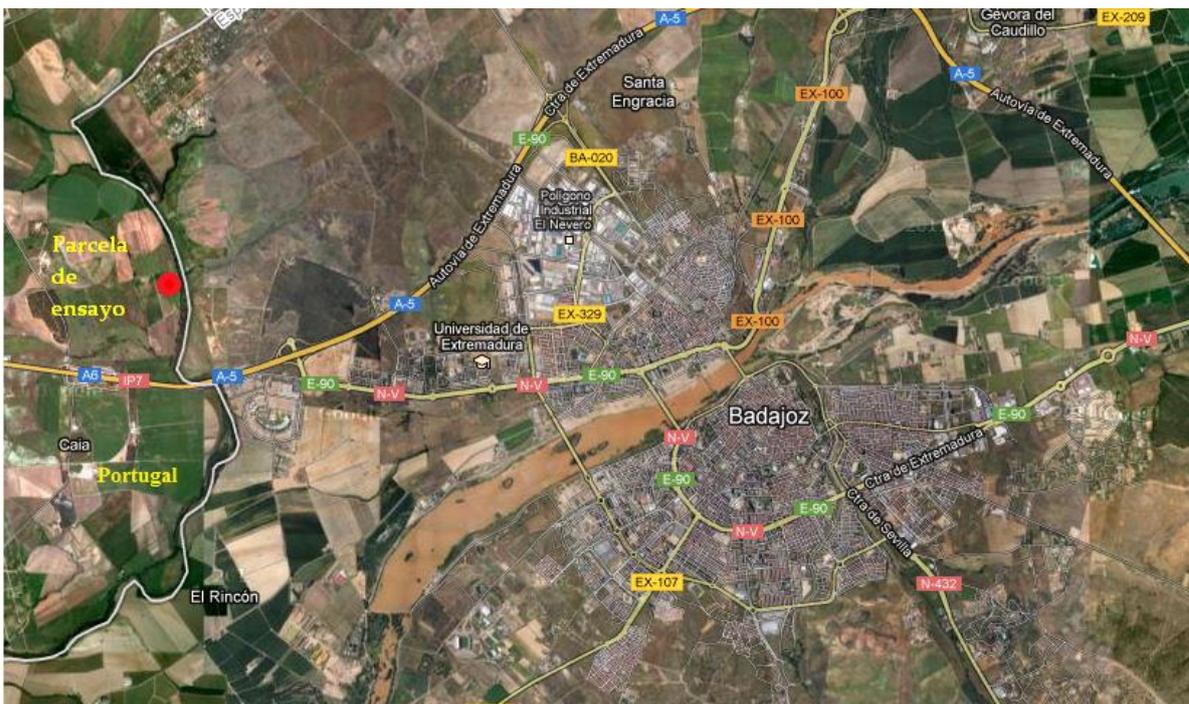


Figura 3.1. Ubicación de la parcela de ensayo. El punto rojo marca la posición exacta del ensayo.
Fuente: <http://maps.google.es/maps?hl=es&tab=wl>.

El experimento fue llevado a cabo en los años agrícolas 2010/11, 2011/12 y 2012/13, bajo las condiciones de clima semiárido Mediterráneo. En el año 2011/12, aunque el ensayo correspondiente tuvo lugar, se descartaron los datos debido a un ataque severo de la enfermedad criptogámica *Tilletia caries*, hongo parásito del trigo, que eliminó la viabilidad de dichas muestras para los análisis correspondientes.



3.2. Clima

El clima en el que se encontró emplazado el experimento fue mediterráneo subtropical, con invierno tipo Citrus y verano tipo Algodón, según la clasificación de Papadakis.

Los datos climáticos medios de los últimos 30 años son los siguientes:

- Temperatura media anual: 17,9 °C
- Temperatura mínima media anual: 10,4 °C
- Temperatura máxima media anual: 23,9 °C
- Temperatura media del mes más frío: 8,5 °C
- Temperatura media del mes más cálido: 25,7 °C
- Duración media del periodo de heladas (según criterio del L. Emberger): 3-4 meses
- ETP media anual: 950 mm
- Precipitación media anual: 460 mm
- Déficit medio anual: 490 mm
- Duración media del periodo seco: 3-4 meses
- Precipitación de primavera: 100-110 mm (24%)
- Precipitación de verano: 30-40 mm (6%)
- Precipitación de otoño: 190-200 mm (42%)
- Precipitación de invierno: 120-130 mm (28%)
- Número de días de lluvia: 61 días
- Número de días de tormenta: 13 días
- Número de días de heladas: 21 días
- Número medio anual de días despejados: 106 días
- Número medio anual de horas de sol: 2.830 horas



3.3. Edafología.

El tipo de suelo donde se instaló el ensayo es del tipo Luvisol de acuerdo con la clasificación FAO (2007). Los ensayos se realizaron en distintas zonas para evitar cualquier efecto acumulativo. Los principales índices físico-químicos se determinaron a raíz de cuatro muestras de tierra, tomadas cada año antes de iniciar el ensayo, a 30 cm de profundidad, con el objetivo de analizar la situación de partida del mismo. Cada muestra se secó en estufa a 70°C hasta pesada constante y se tamizó a < 2 mm usando un molino de rodillos. De cada muestra se determinó:

- **Textura:** se procedió a un análisis granulométrico de las muestras, determinando su textura mediante el diagrama textural U.S.D.A. (2006).
- **pH:** fue medido usando un pHmetro calibrado (en un ratio de 10 g de suelo: 25 ml de agua desionizada H₂O).
- **Materia orgánica:** fue determinado por el método de Walkley y Black (1934), con ácido crómico y determinación colorimétrica.
- **Conductividad eléctrica:** se determinó mediante conductivímetro, extracto 1:2 a 15°C.
- **Fósforo asimilable (mg kg⁻¹):** fue determinado por el método Olsen (Olsen *et al.*, 1954).
- **Sulfatos:** se extrajeron del suelo con una disolución de acetato amónico 1 N tamponado a pH 7 y se determinaron por valoración volumétrica de acuerdo a la norma ISO 11048 (1995).
- **Zn total (mg kg⁻¹):** se determinó tomando una porción de cada suelo que fue finamente molido (<0,45 mm) usando un molino de bolas de ágata (Retch PM 400 mill); 1 g fue digerido con concentración de ácido nítrico ultrapuro (2 ml) y peróxido de hidrógeno 30% w/v (2 ml) usando un vaso cerrado de microondas que aceleró el sistema de reacción (CEM Corp, Matthews, USA), y diluyendo 25 ml con agua ultrapurificada. Los recipientes de las muestras fueron lavados a fondo con ácido antes de usarse. Para asegurar la fiabilidad, se introdujo en cada bloque de muestras un



blanco y un estándar (patrón interno). La concentración de Zn fue medida por espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES, Vista-Pro Axial, Varian Pty Ltd, Mulgrave, Australia). Todos los resultados se muestran con base en peso seco.

- **Zn extraíble del suelo (mg kg^{-1}):** fue determinado de acuerdo con el método de Lindsay y Norvell (1978) por extracción con DPTA (ácido dietilentriaminopentaacético) usando una solución de ratio 1:2 y agitando dos horas. El Zn extraído fue determinado por ICP-OES.

3.4. Diseño experimental.

Se siguió un diseño experimental aleatorio en parcelas subdividas (split-plot) con tres repeticiones, con parcelas elementales de $4,20 \text{ m}^2$ ($3,50 \text{ m} \times 1,20 \text{ m}$). Los tratamientos fueron diferentes de acuerdo con los objetivos del trabajo, siendo:

Objetivo 1:

Desarrollado durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, y con la aplicación de Zn como parcela principal (Tabla 3.1):

- **Tratamiento control (Control):** sin aplicación de Zn (0 Zn).
- **Tratamiento en el suelo (S):** pulverización de la superficie del suelo, antes de la siembra, con una solución acuosa de ZnSO_4 , en una concentración de $50 \text{ kg ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O ha}^{-1}$.
- **Tratamiento foliar (F):** consistente en dos aplicaciones: la primera, en el estado de crecimiento, siguiendo la escala de Zadocks *et al.* (1974), de anthesis (EC-61); y la segunda en el estado de crecimiento de grano lechoso (EC-75). En cada aplicación se utilizó una solución acuosa de $4 \text{ kg de ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ diluido en 800 l por hectárea.
- **Tratamiento al suelo combinado con tratamiento foliar (S+F):** se realizó una combinación de los dos métodos anteriormente descritos.



Tabla 3.1. Tratamientos utilizados para el objetivo 1: dosis y momento de aplicación.

Tratamiento	Zn suelo (kg ha ⁻¹)	Zn foliar (kg ha ⁻¹)	Momento aplicación
Control	0	0	-
Suelo (S)	50	0	Antes de la siembra
Foliar (F)	0	4+4	EC-61 + EC-75
Suelo+Foliar (S+F)	50	4+4	Antes de la siembra + EC-61 + EC-75

• Estudio de diferentes cultivares y variedades comerciales como subparcela. Concretamente para éste objetivo se utilizaron 13 cultivares de trigos harineros, de los cuales tres eran variedades comerciales portuguesas y 10 líneas avanzadas del programa de mejora genética, aún en estudio, por INIAV- Portugal (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Variedades comerciales y cultivares pertenecientes a líneas avanzadas del programa de mejora genética, aún en estudio, de trigo harinero utilizados para el Objetivo 1.

Variedad Comercial	Cultivares en estudio
Ardila	INIAV-1
Nabão	INIAV-2
Roxo	INIAV-3
	INIAV-4
	INIAV-5
	INIAV-6
	INIAV-7
	INIAV-8
	INIAV-9
	INIAV-10

Objetivo 2:

Desarrollado únicamente en el año agrícola 2012/13, y con la aplicación de Zn y urea foliar como parcela principal (Tabla 3.3):

- **Tratamiento control (Control):** sin aplicación de Zn (0 Zn).
- **Tratamiento foliar (F):** consiste en dos aplicaciones: la primera en el estado de antesis (EC-61), y la segunda en el estado de crecimiento de grano lechoso (EC-75). En cada



aplicación se utilizó una solución acuosa de 4 kg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ diluido en 800 L por hectárea.

- **Tratamiento foliar con nitrógeno (FN):** Se realizó una sola aplicación de 4 kg de $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ diluido en 800 L junto con una solución acuosa de 4 kg ha^{-1} urea (46%), en la fase de antesis (EC-61).
- **Tratamiento combinado suelo y foliar (S+F):** aplicación de Zn al suelo mediante pulverización de la superficie del suelo con 50 kg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O ha^{-1}$ antes de la realización de la siembra, y aplicación posterior del tratamiento foliar anteriormente descrito.
- **Tratamiento combinado suelo y foliar con nitrógeno (SF+N):** aplicación de Zn al suelo mediante pulverización de la superficie del suelo con 50 kg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O ha^{-1}$ antes de la realización de la siembra, y aplicación posterior del tratamiento foliar con nitrógeno anteriormente descrito.

Tabla 3.3. Tratamientos utilizados en el objetivo 2: dosis y momento de aplicación.

Tratamiento	Zn suelo (kg ha^{-1})	Zn foliar (kg ha^{-1})	Momento de aplicación	Urea foliar (kg ha^{-1})	Momento de aplicación
Control	0	0	-	0	-
F	0	4+4	EC-61 + EC-75	0	-
FN	0	4	EC-61	4	EC-61
S+F	50	4+4	EC-61 + EC-75	0	-
SF+N	50	4	EC-61	4	EC-61

Estudio sobre diferentes cultivares y variedades comerciales como subparcela. Concretamente se utilizaron seis cultivares, de los cuales cuatro eran líneas avanzadas del programa de mejora genética de INIAV-Portugal, y dos variedades comerciales, seleccionados a partir de los resultados obtenidos en el año 2010/11. Entre ellos se seleccionarán cultivares contrastantes: uno con alto y otro con bajo rendimiento en grano; un cultivar con alto y otro con bajo contenido en Zn en grano y una variedad comercial con alto y otra con bajo contenido en Zn en grano (Tabla 3.4).



Tabla 3.4. Líneas avanzadas, variedades comerciales, así como el motivo de selección, en el año 2010/2011, de trigo harinero en estudio, utilizados para el Objetivo 2.

	Cultivar	Motivo de selección año 2010/2011
Línea avanzada INIAV	INIAV-1	Producción alta
	INIAV-7	Producción baja
	INIAV-4	Baja concentración de Zn en grano
	INIAV-9	Alta concentración de Zn en grano
Variedad comercial	Nabão	Baja concentración de Zn en grano
	Roxo	Alta concentración de Zn en grano

Los tratamientos indicados fueron realizados en los meses de diciembre y enero, para el tratamiento al suelo, y en abril y mayo para los tratamientos foliares. Las fechas exactas en las que se realizaron los tratamientos con las dosis indicadas anteriormente se muestran en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Fechas de siembra y aplicación de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante en los Objetivos 1 y 2.

	Objetivo 1		Objetivo 2
	2010/2011	2012/13	2012/13
Aplicación al Suelo (S)	18/01/2011	05/12/2012	05/12/2012
Aplicación Foliar (F)	20/04/2011	12/04/2013	12/04/2013
	5/05/2011	8/05/2013	-
Aplicación Foliar con Nitrógeno (FN)	-	-	12/04/2013

3.5. Manejo del cultivo.

La preparación del terreno se realizó mediante laboreo, con alzado del mismo mediante arado de vertedera, tras la cosecha de las especies cultivadas en la campaña anterior, seguido de varias labores de grada de discos y/o escarificador para desmenuzar los terrones y preparar el lecho de siembra del cultivo. Las semillas utilizadas fueron tratadas con la finalidad de prevenir posibles infecciones por hongos en las primeras fases del ciclo vegetativo (Tabla 3.6).



Tabla 3.6. Tratamientos herbicidas y fungicidas, y los productos comerciales empleados en los diferentes años de estudio.

Año	Fecha	Tratamiento	Producto comercial	Dosis
2010/11	10/01/2011	Tratamiento de las semillas	Baytan	250 ml 100 kg ⁻¹
	14/01/2011	Herbicida pre-siembra	Trigonal+Roundup	3 l ha ⁻¹ + 1,5 l ha ⁻¹
	01/03/2011	Herbicida pos-siembra	Atlantis+ Bi-hedonal+Genapol	300g ha ⁻¹ + 1 l ha ⁻¹ + 1 l ha ⁻¹
2012/13	29/11/2012	Tratamiento de las semillas	Baytan	250 ml 100 kg ⁻¹ semillas
	05/12/2012	Herbicida pre-siembra	Trigonal+Roundup	3 l ha ⁻¹ + 1,5 l ha ⁻¹
	26/02/2013	Herbicida pos-siembra	Atlantis+ Bi-hedonal+Genapol	300g ha ⁻¹ + 1 l ha ⁻¹
	15/04/2013	Aplicación de fungicida	Prosaro	1 l ha ⁻¹

La composición de los productos comerciales utilizados fue:

- **Atlantis:** granulado dispersable en agua de 0,6% iodo sulfurón metil sodio + 3% mesosulfurón metil + 9% mefenpir-dietil.
- **Baytan:** solución concentrada con 150 g l⁻¹ de triadimenol y triflururon 4 g l⁻¹
- **Bi-Hedonal:** solución acuosa con 325 g l⁻¹ de 2,4 D y 325 g l⁻¹ de MCPA (sales de dimetilamina)
- **Genapol:** solución concentrada con 283 g l⁻¹ de lauril éter diglicol sulfato de sodio.
- **Prosaro:** solución concentrada con protioconazol 12,5% p/v (125 g l⁻¹) y tebuconazol 12,5% p/v (125 g l⁻¹)
- **Roundup:** concentrado soluble a 480 g l⁻¹ de glifosato.
- **Trigonil:** concentrado en suspensión (SC) a 400 g l⁻¹ de clortolurón y 25 g l⁻¹ de diflufenicán.

La siembra de las parcelas se efectuó el 18 de enero de 2011 y el 4 de diciembre de 2012, utilizando una sembradora de ensayos modelo Plotman de 6 surcos, y con una dosis de siembra de 350 granos por metro cuadrado, variando de acuerdo al peso de la semilla de cada cultivar, en seis líneas con una separación entre líneas de 20 cm.



Se realizaron abonados de fondo con abono *triple 15* (15-15-15) y de cobertera con nitrato amónico cálcico (NAC 27%) según las dosis, tipos de abonos y fechas que se muestran en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7. Tipo de abonado, fecha de aplicación, denominación del abono y dosis empleadas en los diferentes años de estudio.

Año	Tipo de abonado	Fecha aplicación	Denominación del abono	Dosis (kg ha ⁻¹)
2010/2011	Fondo	18/01/2011	<i>Triple 15</i> (15-15-15)	200
	Cobertera	25/02/2011	NAC 27 %	250
2012/2013	Fondo	20/11/2012	<i>Triple 15</i> (15-15-15)	200
	Cobertera	28/01/2013	NAC 27 %	250

3.6. Determinaciones y análisis.

Los parámetros determinados, tanto a lo largo del ciclo cultural de las plantas como después de la cosecha, se refieren a las fases fenológicas de desarrollo, componentes de producción y los parámetros morfofisiológicos relacionados con la producción de grano, con el objetivo de poder comprender el comportamiento ecofisiológico y la respuesta a la aplicación de zinc de los distintos genotipos estudiados.

En cada parcela elemental se realizaron las siguientes determinaciones:

- **Días a espigado:** Corresponde al número de días contados desde la fecha de emergencia hasta que emerge la espiga. Su determinación se realizó mediante el método visual por dos o más personas.

- **Días a antesis:** Equivale al número de días entre la fecha de emergencia hasta que la planta entra en el periodo de floración (antesis). Su determinación se realizó mediante el método visual por dos o más personas.

- **Días a grano lechoso:** Equivale al número de días entre la fecha de emergencia y la fecha en que el grano se encuentra en la fase de grano lechoso. Su determinación se realizó mediante el método visual por dos o más personas.

- **Altura de las plantas (cm):** Para su determinación se midieron cuatro plantas en el estado de antesis, utilizándose el valor medio, considerando la distancia entre el suelo y el extremo de la espiga del tallo principal.



- **Rendimiento del grano (kg ha^{-1}):** Para la determinación del rendimiento del grano se cosecharon todas y cada una de las parcelas unitarias de superficie $4,2 \text{ m}^2$. La recolección se efectuó con la cosechadora de ensayos de la marca *Wintersteiger* modelo *Nurserymaster Elite* de 1,5 m de anchura de corte, a finales de junio y principio de julio. Posteriormente, para obtener la producción por hectárea, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Producción grano (kg ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Peso grano parcela (kg)} \times 10.000 \text{ m}^2}{4,20 \text{ m}^2}$$

- **Peso hectólitro (kg hl^{-1}):** Se determinó utilizando un citómetro electrónico tipo *Kern*. Como medida discriminatoria de la calidad en virtud del peso específico por los organismos de intervención de los estados miembros, la Comisión Europea define los umbrales según el Reglamento CE 824/2000 e incorporados según el RD 1615/2010 del 11 de diciembre de 2010:

- $\geq 80 \text{ kg hl}^{-1}$: trigo blando extra
- $\geq 78 \text{ kg hl}^{-1}$: trigo blando de media calidad
- $\geq 75 \text{ kg hl}^{-1}$: trigo blando de baja calidad
- $< 75 \text{ kg hl}^{-1}$: trigo blando sin especificación.

- **Peso de los 1000 granos (g):** Para su determinación se utilizó un contador fotoeléctrico de granos de la firma *Sadkiewicz instruments* modelo *Seed Counter*. Para ello se pesó una muestra de 1000 granos, de cada parcela elemental, en una balanza de precisión.

- **Contenido de proteína en el grano (%):** Se determinaron por el método Kjeldhal, adaptada al sistema Kjelttec de Tecator (1987). Para la determinación del contenido de proteínas, se multiplicó el porcentaje de nitrógeno en grano por el factor 5,7 según Randall y Moss (1990). Como medida discriminatoria de la calidad, el Reglamento de la Comisión Europea CE 824/2000, que fue incorporado a la legislación española según el RD 1615/2010 del 11 de diciembre de 2010, define los siguientes umbrales:

- $\geq 13,01 \%$ de proteína: trigo blando de calidad extra.
- 12,01-13% de proteína: media calidad
- 11,01-12% de proteína: trigo blando de muy baja calidad
- $< 10\%$ de proteína: trigo blando sin especificación



- **Determinación del Índice de Sedimentación SDS (mm):** Este análisis da una estimación de la fuerza del gluten y se basa en la medida del volumen de sedimentos que deja una harina al hacer una agitación con dodecil sulfato de sodio y ácido láctico. Se adoptó el método de Dick y Quick (1983).

- **Contenido en cenizas (%):** Se preparó una muestra de harina integral de 25 g, de la cual se toman 5 g, que fueron depositados en una cápsula cerámica lavada y de peso estable y constante, capaz de resistir la temperatura de 900° C del horno en el que fue introducida por un periodo de 2 horas, tiempo necesario para la combustión total de la muestra a analizar. Pasado dicho tiempo, las cápsulas fueron colocadas en un desecador hasta que se enfriaron para su posterior pesado. El contenido de cenizas, expresado en porcentaje en masa referido a la materia seca sigue la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido Cenizas (\%)} = m_1 \times \frac{100}{m_0} \times \frac{100}{18-H}$$

En donde:

m_0 : masa en gramos de la muestra para análisis (± 5 g)

m_1 : masa en gramos de residuo

H: contenido de agua, en tanto por ciento, de la muestra.

- **Contenido de Zn total y otros elementos en el grano (mg kg^{-1}):** Para la determinación de la concentración tanto de Zn así como de potasio (K), fósforo (P), azufre (S), magnesio (Mg), calcio (Ca), hierro (Fe), cobre (Cu) y manganeso (Mn), se procedió a moler las muestras en un molino de bolas de ágata (Retch PM 400 mill). Todas las muestras fueron cuidadosamente lavadas por agua corriente y agua desionizada, siendo posteriormente secadas a 75° C y 45° C respectivamente. El contenido de Zn total en el grano fue determinado por ICP-OES, como fue descrito en el análisis del contenido de Zn en las muestras del suelo.

- **Acumulación de Zn por hectárea (g ha^{-1}):** Fue calculado utilizando el rendimiento en grano por hectárea y el contenido de Zn en grano, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Acumulación de Zn por ha (g ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Rendimiento (kg ha}^{-1}\text{)} \times \text{Contenido Zn grano (mg kg}^{-1}\text{)}}{1000}$$



3.7. Análisis estadístico

Para proceder al análisis estadístico, se separaron los dos objetivos de este trabajo.

Objetivo 1:

El efecto del año (2010/11 y 2012/13) en el Zn total y extractable (DTPA) del suelo fue evaluado mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía.

Los datos de número de días a espigado, antesis y grano lechoso, altura, producción, peso de mil granos, peso hectólitro, contenido en proteínas, índice de sedimentación (SDS), contenido en cenizas, contenido de Zn total en grano, concentración de Zn por hectárea, así como el contenido de otros elementos del grano (K, P, S, Mg, Ca, Fe, Cu y Mn) fueron sometidos a una ANOVA de tres vías que incluía los años estudiados (2010/11 y 2012/13), la aplicación de Zn (control, suelo, foliar y suelo+foliar), los cultivares estudiados (10 cultivares en estudio y tres variedades comerciales) así como sus interacciones en el modelo. Cuando se encontraron diferencias significativas en la ANOVA, las medias fueron comparadas mediante el test de Fisher de mínima diferencia significativa (MDS) a $P \leq 0,05$. La mínima diferencia significativa para la comparación de los diferentes tratamientos y sus interacciones fue calculada utilizando los errores estándar sugeridos por Gómez y Gómez (1984).

Objetivo 2:

Para este objetivo, sólo intervino el año agrícola 2012/13, siendo los datos de producción, contenido en proteína, contenido de Zn total en grano y acumulación de Zn por hectárea, los parámetros sometidos a una ANOVA de dos vías, incluyendo la aplicación de Zn y urea (control, F, FN, S+F, y S+FN), los cultivares estudiados (cuatro cultivares en estudio y dos variedades comerciales), así como sus interacciones en el modelo. Cuando se encontraron diferencias significativas en la ANOVA, la media fue comparada utilizando el test de Fisher (LSD) en $P \leq 0,05$.

Tanto para el Objetivo 1 como para el Objetivo 2, se llevaron a cabo test de correlación de Pearson entre los parámetros determinados para evaluar la correlación entre ellos. Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico Statistics v.8.10.



4. Resultados y discusión



4.1. Condiciones climáticas

Los principales componentes ambientales que afectan, tanto al desarrollo de la planta como a la producción y calidad de la semilla producida, son el fotoperiodo, la temperatura y las precipitaciones, siendo estos dos últimos factores los más determinantes (Hay y Kirby, 1991; Slafer y Rawson, 1994; Dias, 2007; Nawad *et al.*, 2011).

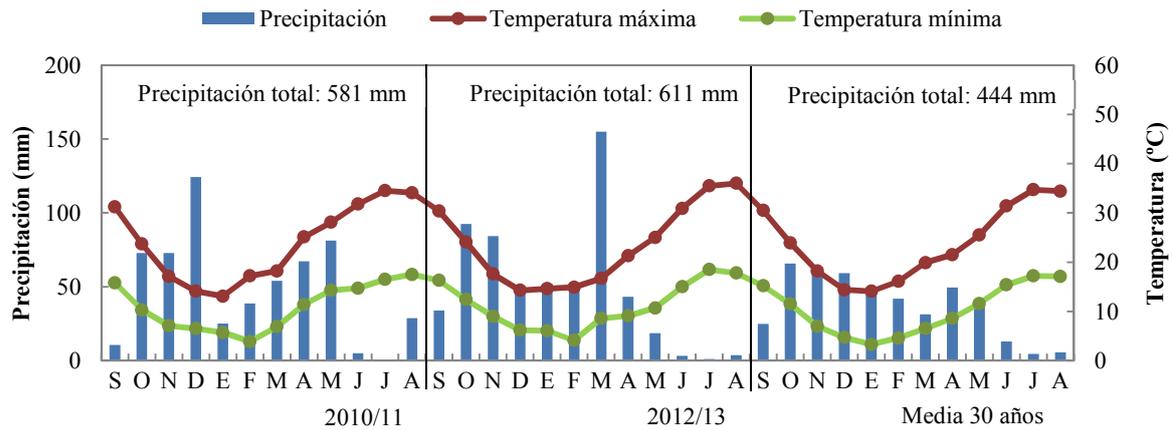


Figura 4.1: Precipitación (anual y mensual) y temperaturas máximas y mínimas medias mensuales durante los años 2010/11, 2012/13 y de la media de los 30 años. *Fuente:* Elaboración propia a partir de los datos obtenidos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) de la estación Campus Universitario de Badajoz.

Las precipitaciones totales durante los dos años de estudio, 581 mm y 611 mm respectivamente, fueron muy superiores a la precipitación media de la zona, 444 mm (Figura 4.1). En cuanto a la distribución estacional de las precipitaciones, se observó cómo existieron sustanciales diferencias entre ellos: las precipitaciones otoñales fueron superiores que la media de la zona en los dos años, siendo estas diferencias de 81 mm y 37 mm respectivamente; la precipitación invernal del año 2012/13 fue superior en 136 mm respecto de la media de los 30 años (121 mm) como consecuencia de la lluvia caída durante el mes de marzo, en el que se alcanzaron 155 mm de precipitaciones (Figuras 4.1 y 4.2); con respecto a las precipitaciones primaverales, éstas fueron algo superiores en 2010/11 (54 mm), aunque en este año y entre los meses de abril y mayo, es decir, en el periodo de floración, ocurrió un periodo sin precipitaciones durante la primera quincena de abril y la primera quincena de mayo. Las precipitaciones primaverales de 2012/13 fueron ligeramente inferiores (35 mm) respecto al año medio (100 mm) (Figura 4.2).

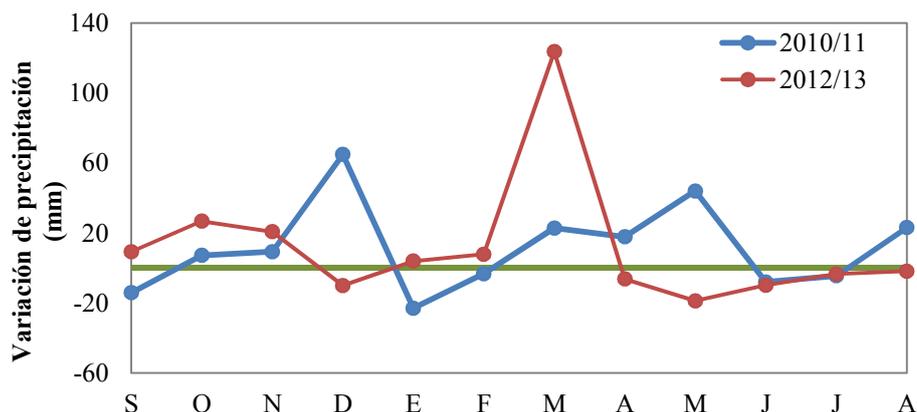


Figura 4.2. Variación mensual de las precipitaciones de los años 2010/11 y 2012/13 con respecto a la media de 30 años. *Fuente:* Elaboración propia a partir de los datos obtenidos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) de la estación Campus Universitario de Badajoz.

El ambiente en el que se desarrolla el cultivo del trigo tiene un profundo impacto tanto en los rendimientos como en la calidad del mismo, explicando por qué se producen diferentes rendimientos y calidades en los diversos climas del mundo (Stone y Savin, 2000). Las principales limitaciones impuestas por el clima semiárido mediterráneo para la producción de cereales, son la escasez hídrica y las temperaturas elevadas que ocurren durante la etapa de llenado del grano, pudiendo ser solventada, la primera limitación, mediante la práctica de riegos, de tal forma que cuando esta posibilidad existe, la mayor preocupación reside en las temperaturas (Maçãs, 1996).

La evolución de las temperaturas durante los años de estudio fue similar a la del periodo de referencia (Figura 4.1). El mes más frío fue febrero con 3,9° C de media de mínimas en 2010/11, y 4,1° C en 2012/13, inferiores a la media de dicho valor en el mes más frío del año medio (4,6° C). Las temperaturas máximas otoñales fueron similares a la del año medio, aunque 2010/11 fue más frío, destacando el mes de noviembre (1,1° C inferior que la media). Sin embargo, las temperaturas mínimas fueron superiores a la media en los dos años, con valores que superaron en 1,5° C a la media de las mínimas (Figura 4.1). En el periodo invernal, las temperaturas máximas, para ambos años, fueron algo más gélidas que la media, con variaciones de entre 1° C y 1,7° C en 2010/11, y de entre 1,2° C y 3,2° C en 2012/13. Por el contrario, las mínimas siguieron la tendencia opuesta, destacando enero con variaciones superiores a la media de 2,4° C y 2,8° C, respectivamente. Por último, durante el periodo de formación del grano (abril-mayo), en 2010/11 las temperaturas máximas fueron superiores en 3,6° C y 2,6° C respectivamente a los valores



del año medio, mientras que en 2012/13 los valores fueron similares a la media (Figura 4.1). Las temperaturas mínimas en el año 2010/11, en los meses de abril (2,8° C) y mayo (2,7° C), también fueron superiores a la media.

4.2. Propiedades del suelo de las localizaciones de los ensayos

En la Tabla 4.1 se observa el análisis de suelo realizado antes de la implantación del ensayo en cada uno de los años de estudio. Los resultados del año 2011/12 no se presentan, puesto que dicho año agrícola fue desechado por el severo ataque que sufrió del hongo *Tilletia caries*, impidiendo el análisis posterior de las muestras.

Tabla 4.1. Resultados de los análisis físico químicos del suelo de la finca “Herdade da Comenda” a 25cm de profundidad (valor medio \pm error estándar).

Parámetros	2010/11	2012/13	Interpretación
Textura	Arcillosa	Arcillosa	-
pH (H ₂ O)	7,4 \pm 0,12	7,0 \pm 0,11	Neutro
Materia orgánica (%)	1,4 \pm 0,01	1,2 \pm 0,02	Bajo
Nitrógeno total N (%)	0,07 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	Bajo
Fósforo ext. P ₂ O ₅ (ppm)	9,10 \pm 0,32	8,57 \pm 0,25	Bajo
Potasio ext. K ₂ O (meq/100 g)	0,41 \pm 0,04	0,48 \pm 0,03	Medio
Carbonatos CaCO ₃ (%)	0	0	-
Zn (mg kg ⁻¹)	24,7 \pm 0,31	23,5 \pm 0,32	Bajo
Zn DTPA (mg kg ⁻¹)	0,30 \pm 0,02	0,29 \pm 0,01	Bajo

El análisis de suelo inicial de cada uno de los años indicó que el ensayo se desarrolló sobre suelos de textura arcillosa, de pH neutro y bajo contenido en materia orgánica, N y P, aunque medios de potasio (K) (Tabla 4.1).

En cuanto al Zn total y de acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA), el año de estudio afectó significativamente al contenido total de Zn (grado de libertad (df) = 1, F = 9,2, P \leq 0,05), siendo significativamente mayor en 2010/11 (24,7 \pm 0,31 mg kg⁻¹) que en 2012/13 (23,5 \pm 0,32 mg kg⁻¹). Estos suelos se consideran como suelos deficientes en Zn total, de acuerdo a las clasificaciones de Kiekens (1995) y Timsida y Connor (2001) quienes establecieron el contenido adecuado en el suelo los comprendidos entre 50 y



55 mg kg⁻¹. De igual forma, Alloway (2008) estableció que si el contenido de Zn en el suelo variaba entre 10 y 30 mg kg⁻¹, el suelo sufría la considerada como “*deficiencia primaria de Zn*” o deficiencia en Zn ocasionada por bajos niveles de Zn total en el suelo.

A pesar de que el parámetro Zn total es comúnmente usado, no es siempre un buen indicador de la biodisponibilidad para las plantas, siendo el Zn-DPTA un parámetro más exacto (Cakmak, 2009b). El Zn-DTPA no fue afectado por el año de estudio (df=1, F=1,54, P=0,26) con una media y un error estándar de 0,30 ± 0,02 mg kg⁻¹ en 2010/11 y 0,29 ± 0,01 mg kg⁻¹ en 2012/13, siendo estos valores inferiores al valor crítico aceptado de 0,5 mg kg⁻¹ (Sims y Johnson, 1991) para que puedan ser considerados suelos con un contenido aceptable en Zn extraíble y favorecer así el correcto desarrollo de los cultivos. Esta falta de significación se podrá interpretar que las diferencias que se encuentren, con relación a los contenidos de Zn total en el grano, en los mismos cultivares y entre los diferentes años de estudio, serán debidas principalmente a causas climatológicas en lugar de a cambios en la concentraciones de Zn en el suelo.

De esta forma, la cantidad de Zn presente en los suelos de la zona de estudio no fue suficiente para producir cultivos con niveles adecuados de este nutriente, pudiendo afectar a la ingesta diaria recomendada (IDR) de la población que los ingiera. En estos suelos, los programas de biofortificación con Zn pueden jugar un papel fundamental para incrementar las concentraciones de este nutriente en el grano de trigo harinero.



4.3. Resultados y discusión del Objetivo I



En este objetivo, se evaluó el potencial de 13 cultivares, de los cuales 10 fueron líneas avanzadas del programa de mejora genética del Instituto Nacional de InvestigaçãO Agrária e Veterinaria (INIAV) de Portugal, y tres fueron variedades comerciales de trigo harinero, estudiando la interacción de la biofortificación genética y agronómica de Zn sobre los diferentes cultivares y su efecto sobre la fenología y morfología del cultivo, la producción de grano, el peso de mil granos, así como sobre los principales parámetros de calidad, y su interacción sobre los diferentes macro y micronutrientes en el grano.

4.3.1. Longitud del ciclo

En la Tabla 4.2 se muestra el resultado del análisis de varianza (ANOVA) para la longitud del ciclo en cuanto a días a espigado, días a antesis y días a grano lechoso. Las variables: año de estudio y cultivar, así como la interacción entre ellas, influyeron significativamente ($P \leq 0,01$) en la longitud del ciclo en los tres estadios de crecimiento analizados. Sin embargo, la aplicación de Zn no influyó significativamente sobre la longitud del ciclo en ninguno de los momentos observados.

Tabla 4.2. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de las longitudes de ciclo: días a espigado, días a antesis y días a grano lechoso, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	Fenología			
	g.l.	Espigado	Antesis	Grano lechoso
Año	1	4353,3***	35732,8***	11957,9***
Tratamiento Zn	1	0,4 <i>ns</i>	2,2 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>
Cultivar	12	3,9***	3,1***	4,0***
Año x Tratamiento Zn	1	3,6 <i>ns</i>	0,1 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>
Año x Cultivar	12	5,0***	3,6***	3,0**
Tratamiento Zn x Cultivar	12	1,5 <i>ns</i>	0,6 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>
Año x Tratamiento Zn x Cultivar	12	1,2 <i>ns</i>	0,5 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>

ns, no significativo; **, *** Significación a un 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente

La longitud del ciclo es una característica de gran relevancia a la hora de evaluar la adaptación de una variedad a diferentes regiones, determinando la producción del cultivo bajo condiciones normales (Richards, 1996; Slafer y Araus, 1998). Esta razón es el motivo por el cual la longitud en número de días a espigado, antesis y grano lechoso son atributos



importantes a tener en cuenta en los programas de mejora (Slafer, 2003). La importancia de la longitud del ciclo en este tipo de programas de biofortificación genética, radica en la diferente evolución en la toma y acumulación del Zn por la planta. Distelfeld *et al.* (2007) encontraron que hasta el 100% del Zn del grano es captado en la etapa inicial del llenado del grano, por tanto, cuanto antes comience la antesis y el periodo se mantenga con condiciones de humedad alta y temperaturas suaves, más largo será el periodo de llenado del grano y mejor será la acumulación de Zn en el mismo (Cakmak, 2002).

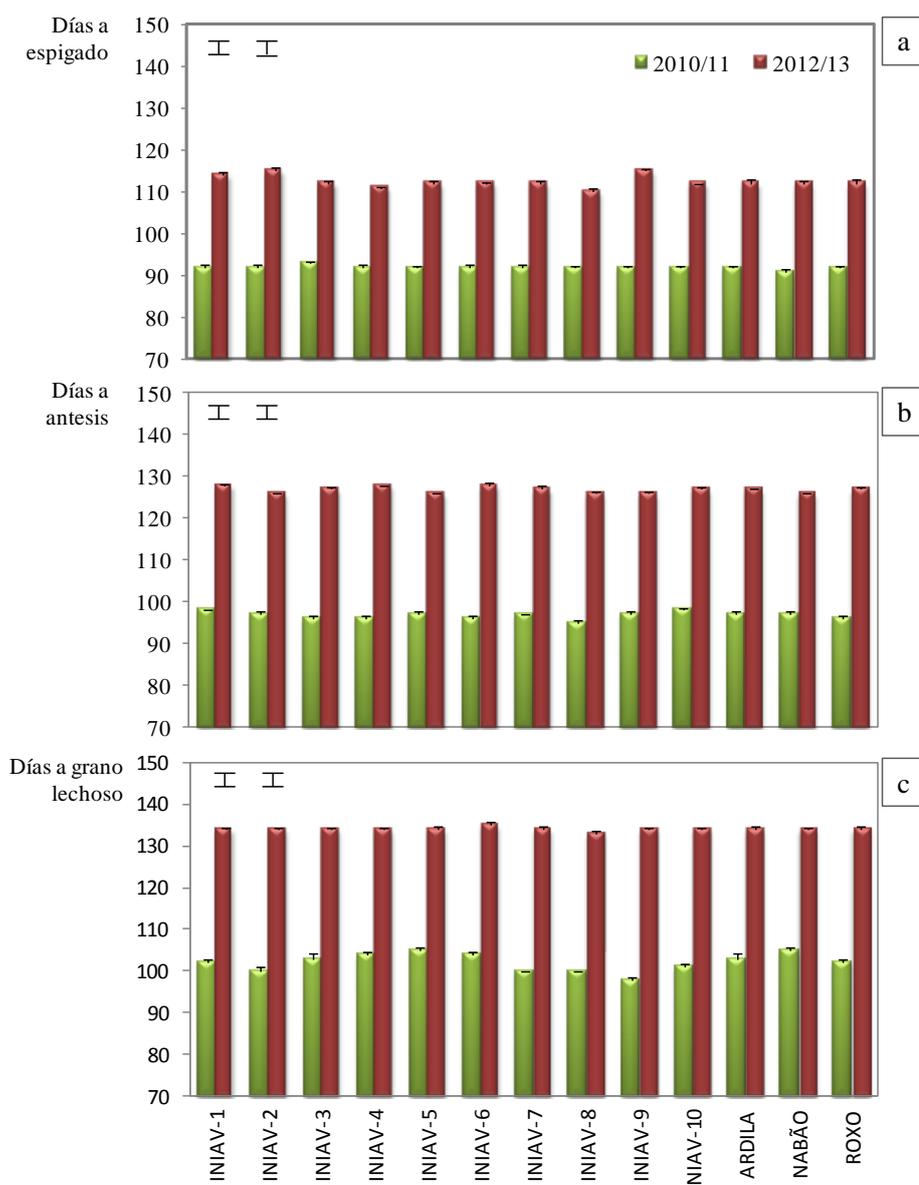


Figura 4.3. Efecto de los cultivares estudiados sobre el número de días a espigado (a) a antesis (b) y a grano lechoso (c) durante los años agrícola 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.



El ciclo fue más largo en el año 2012/13 con respecto a 2010/11, con una media de 20 días más hasta alcanzar el estadio del espigado, 30 días para la antesis y 32 días hasta el de grano lechoso (Tablas I, II y III), debido por un lado a las mayores precipitaciones y temperaturas inferiores del año 2012/13, y por otro al anticipo de la siembra en ese año. La aplicación de Zn al suelo antes de la siembra, único tratamiento que se evalúa en estos parámetros (la aplicación foliar se efectuó en antesis y grano lechoso) no provocó diferencias en cuanto a la longitud del ciclo demostrando ser una característica afectada principalmente, por factores genéticos y medioambientales (Khan *et al.*, 2008). De acuerdo con numerosos autores (Hay y Kirby, 1991; Slafer y Rawson, 1994; Dias, 2007; Nawad *et al.*, 2011), el fotoperiodo, la precipitación y la temperatura son los factores que más afectan al periodo de llenado del grano. Así, en las especiales condiciones del clima semiárido mediterráneo, con largos días soleados y condiciones de sequía en las etapas de llenado, se produce un mayor daño fotooxidativo en las hojas, provocando un periodo de llenado del grano generalmente menor (Cakmak *et al.*, 2000; Bagci *et al.*, 2007). Al estudiar el comportamiento de los diferentes cultivares en cada uno de los años de estudio, se observó que las diferencias entre ellos, desde uno a cinco días (Figura 4.3, Tablas I, II y III), fueron significativas en el caso de días a espigado y a antesis en 2010/11, y en todos los casos en 2012/13.

Por todo ello se puede concluir la gran adaptación, en cuanto a la longitud del ciclo, de los diferentes cultivares siendo, en especial, el número de días a espigado el parámetro que mejor define, en condiciones mediterráneas semiáridas, la adaptación de un cultivar a las diferentes áreas, determinando su producción (Richards, 1996; Slafer y Araus, 1998).

4.3.2. Altura

La altura de la planta constituye un factor de gran importancia en el rendimiento de los trigos, ya que tallos excesivamente largos predisponen a las plantas al encamado fisiológico. Además, la altura de la caña resulta un gran indicador de la incidencia del estrés ambiental (sequía y deficiencias nutritivas principalmente) durante el desarrollo de los cereales. Las plantas, en dichas circunstancias, presentan menor altura a causa de la inhibición del alargamiento celular dado por el grado de turgencia que tienen las células en estas condiciones (Boyer, 1968; Mathews y Boyer, 1984), así como la alteración en los procesos fisiológicos tales como la fotosíntesis, la respiración, la translocación y la



distribución de metabolitos (Eastin, 1983). El análisis de varianza para la altura de las plantas indicó el efecto significativo del año de estudio, el tratamiento con Zn, el cultivar empleado así como las interacciones año x tratamiento con Zn y año x cultivar (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de la altura en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Altura
Año	1	828,9 ***
Tratamiento Zn	1	26,3 ***
Cultivar	12	21,9 ***
Año x Tratamiento Zn	1	14,2 ***
Año x Cultivar	12	5,0 ***
Tratamiento Zn x Cultivar	12	0,9 <i>ns</i>
Año x Tratamiento de Zn x Cultivar	12	0,6 <i>ns</i>

ns, no significativo; *** Significación a un 0,001 nivel de probabilidad.

La altura media de las plantas varió entre los dos años de estudio, siendo mayor en 2012/13 que en 2010/11, con alturas de $93,5 \pm 0,6$ cm vs. $73,3 \pm 0,9$ cm (Tabla IV). Esta gran diferencia puede deberse, por un lado a la anticipación de la siembra en 2012/13, y por otro a las diferentes condiciones pluviométricas en la época de sementera entre los dos años, ya que en 2012/13 la pluviometría del mes de diciembre fue de 49,3 mm frente a los 25,1 mm caídos en el mes de enero de 2010/11 (Figura 4.1).

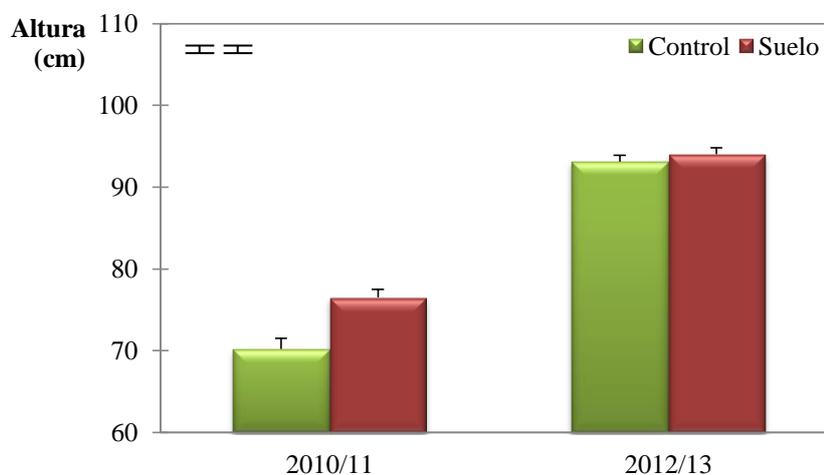


Figura 4.4. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante sobre la altura del trigo durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: a la izquierda al mismo nivel de año, y a la derecha a diferente nivel de año.



En el año medio, la aplicación de Zn al suelo produjo un incremento significativo en la altura de las plantas, medidas en el periodo de antesis, de 3,6 cm de media frente a la no aplicación ($85,2 \pm 1,2$ cm vs. $81,6 \pm 1,5$ cm) (Tabla IV). Este hecho está en consonancia con lo citado por otros autores, que indicaron que las plantas desarrollan mayor crecimiento, es decir, mayor producción de biomasa y desarrollo del sistema radicular ante la presencia de Zn en el suelo (Cakmak *et al.*, 1997; Graham *et al.*, 1998; Welch y Graham, 2005; Cakmak, 2007), puesto que es requerido para la síntesis del ácido β -indol acético, siendo ésta una de las hormonas de crecimiento en las plantas (Navarro y Navarro, 2003). Sin embargo, cuando se analizaron los años de forma independiente, la aplicación de Zn tuvo un efecto diferente, siendo esta diferencia significativa en 2010/11 ($76,5 \pm 1,3$ cm vs. $70,2 \pm 1,0$ cm), mientras que no así en 2012/13 ($94,0 \pm 0,8$ cm vs. $93,1 \pm 0,8$ cm) (Tabla IV y Figura 4.4). Estos hechos pueden ser explicados por la precipitación deficitaria en las primeras etapas de desarrollo de la planta del año 2010/11, originando una peor nacencia así como una menor descomposición microbiana de la materia orgánica, viéndose la altura favorecida por la aplicación de Zn fertilizante al suelo (Lindsay, 1972; Alloway, 2008).

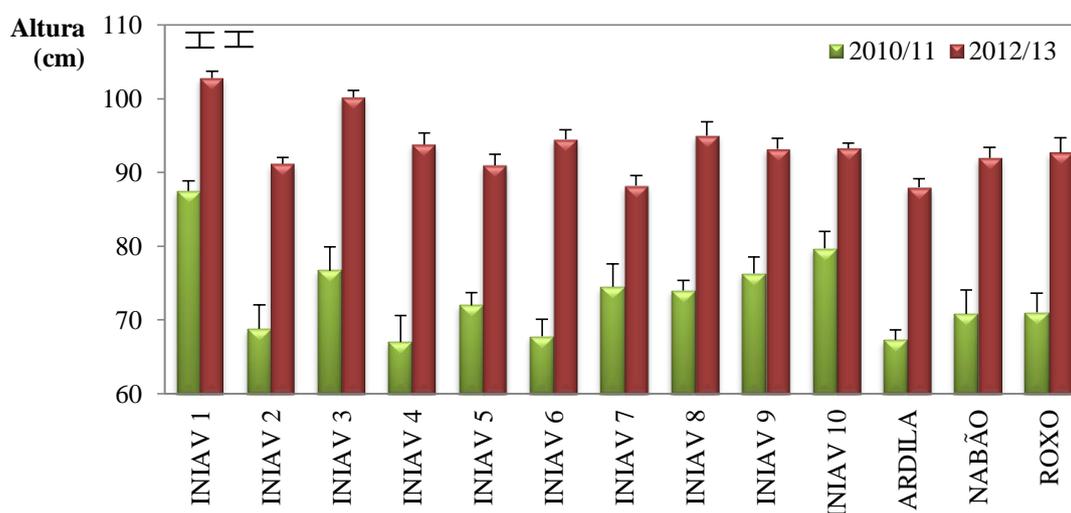


Figura 4.5. Efecto de los cultivares estudiados sobre la altura media para los años agrícola 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

Los datos obtenidos ponen de manifiesto la gran importancia de la carga genética sobre la altura de las plantas. El cultivar INIAV-1, con una altura media de $95,2 \pm 2,5$ cm, fue el cultivar de mayor altura, mientras que la variedad comercial Ardila fue la de menor altura, con menos de 80 cm de media (Tabla IV). Cuando se analizaron los dos años de



forma independiente, la altura de los cultivares varió entre $61,0 \pm 3,2$ y $89,7 \pm 1,8$ cm en 2010/11, y entre $87,0 \pm 0,4$ y $104,0 \pm 1,4$ cm en 2012/13, siendo INIAV-1 el cultivar de mayor altura en ambos años, destacando además INIAV-3 en el año 2012/13 (Tabla IV y Figura 4.5). Diferentes autores establecieron entre 70 cm y 100 cm la altura que los trigos deben tener, en condiciones mediterráneas, para alcanzar un óptimo rendimiento (Richards y Passioura, 1992; Maçãs, 1996; Fischer, 2007a). Por lo tanto, todos los cultivares estarían entre dichos valores, a excepción de los cultivares INIAV-1 e INIAV-3 en el año 2012/13, siendo la carga genética el factor causante de las diferencias entre ellos.

4.3.3. Producción de grano

En la Tabla 4.4 se presenta el resultado de la ANOVA de la producción de grano, que estuvo significativamente influenciado por las variables año, tratamiento de Zn y cultivar estudiado, así como por las interacciones entre ellas, excepto de año x tratamiento de Zn.

Tabla 4.4. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de la producción de grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas.

	g.l. Producción	
Año	1	2119,5***
Tratamiento Zn	3	15,6***
Cultivar	12	12,1***
Año x Tratamiento Zn	3	0,40 <i>ns</i>
Año x Cultivar	12	15,4***
Tratamiento Zn x Cultivar	36	2,05**
Año x Tratamiento de Zn x Cultivar	36	2,59***

ns, no significativo; **, *** Significación a un 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente.

La producción media fue significativamente mayor en el año 2012/13, con 3.585 ± 39 kg ha⁻¹ frente a 2.138 ± 34 kg ha⁻¹ producidos en 2010/11 (Tabla V). Este hecho puede ser explicado por las diferentes condiciones climáticas acaecidas en cada uno de los años de estudio, especialmente respecto a las condiciones de temperatura y precipitación, factores clave en la producción de los trigos en la zona mediterránea (López-Bellido, 1997). Así, el periodo de escasez hídrica ocurrido en 2010/11, que se extendió desde la nacencia hasta la fase de encañado, así como el periodo de sequía, de aproximadamente 40 días entre los meses de abril y mayo, provocaron una reducción drástica de la producción con respecto al año 2012/13.



La temperatura también jugó un factor clave en la producción de grano. Así, diversos estudios efectuados en ambientes controlados por Chowdhury y Wardlaw (1978), y Wardlaw *et al.* (1989), revelaron que los límites óptimos de temperatura media durante el llenado del grano varían entre 15 y 18° C y que además, por cada grado que la temperatura media sube la producción de grano se reduce entre un 3 y un 4%. Sin embargo, otros autores en estudios más recientes, han encontrado que la temperatura óptima para el desarrollo del grano se sitúa en torno a los 20° C (Jenner, 1991a; Russell y Wilson, 1994; Dupont y Altenbach, 2003), al igual que el óptimo para la fotosíntesis (Al-Khativ y Paulsen, 1984), de tal forma que por cada grado que la temperatura esté por encima de la óptima, se produce una reducción de 2,19 días en el periodo de llenado del grano (Vitkare *et al.*, 1990) y una bajada de la producción de grano del 3,4% (Maçãs *et al.*, 1999). En este estudio y durante el año 2010/11, la temperatura media del mes de mayo, mes en el que se produce el llenado del grano, fue de 21,6° C por lo que se produjo una reducción de 4 días del periodo de llenado del grano, según Vitkare *et al.* (1990), y una reducción de la producción de entre un 5,4% según Maçãs, (1999), y un 17,9% según Wardlaw *et al.* (1989) (Tabla 4.5). En el año 2012/13, la temperatura media fue de 18,9° C, por lo que se produjo una reducción del 8,4%, según Wardlaw *et al.* (1989), mientras que, para el resto de autores, la temperatura se situó por debajo de la temperatura óptima, no produciéndose una reducción en el número de días de llenado del grano, ni por tanto una reducción de la producción por la temperatura (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Variación de la producción con respecto a la temperatura óptima de formación del grano, y variación de la temperatura media en el periodo de desarrollo del grano, de acuerdo a diversos autores.

Año	T^a media (°C)	Disminución producción (%)^a	Disminución de la producción (%)^b	Variación T^a (°C)^c	Variación días llenado del grano^d
2010/11	21,6	17,9	5,4	1,6	-4
2012/13	18,9	8,4	0	-1,1	0

^a Wardlaw *et al.*, 1989a. ^b Maçãs *et al.*, 1999. ^c Variación de la T^a media con respecto a la T^a óptima según Jenner, 1991b; Russell y Wilson, 1994; Dupont y Altenbach, 2003, y citado por Días, 2007. ^d Respecto a la temperatura óptima de 20° C según Vitkare *et al.*, 1990.

Desde el punto de vista de la mejora genética de un programa de biofortificación con Zn, interesa seleccionar cultivares que mayor cantidad de grano produzcan y que más Zn acumulen en el grano en la dosis control y en suelos deficientes de Zn total y Zn-DPTA (biofortificación genética); y en la selección de cultivares que obtengan un mayor incremento de la producción y acumulación de Zn en el grano bajo las diferentes formas de aplicación de Zn (biofortificación agronómica).

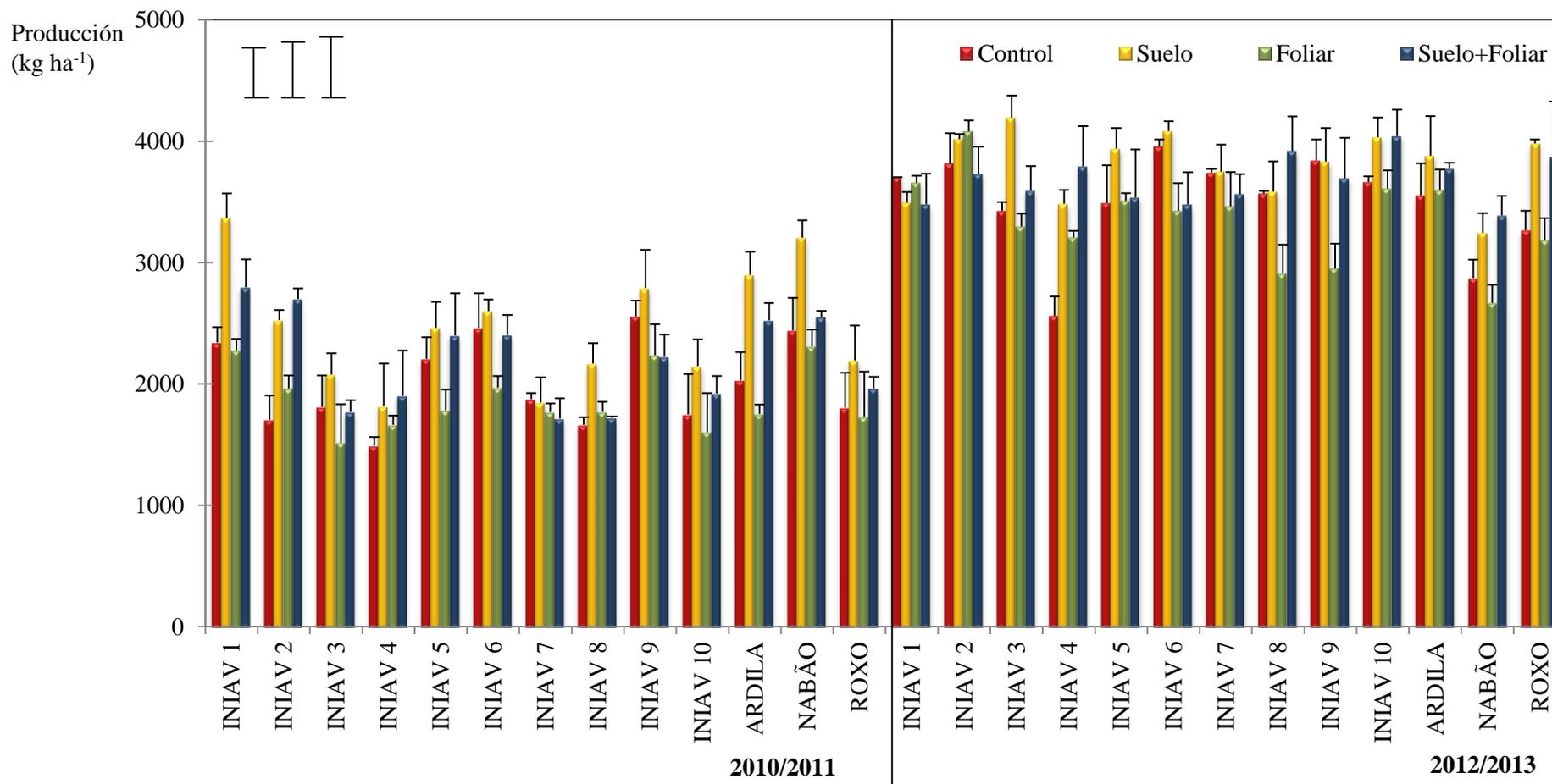


Figura 4.6. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y los cultivares estudiados sobre la producción durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año.



La producción, en los cultivares no fertilizados con Zn, varió entre 1.491 ± 71 hasta 2.556 ± 130 kg ha⁻¹ en 2010/11, y desde 2.563 ± 158 hasta 3.956 ± 59 kg ha⁻¹ en 2012/13, con una media de 2.010 ± 69 kg ha⁻¹ y 3.497 ± 70 kg ha⁻¹, respectivamente, destacando significativamente los cultivares INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9 en el año medio, además de INIAV-5, Ardila y Nabão en 2010/11, e INIAV-2, INIAV-7, INIAV-8 e INIAV-10 en 2012/13 (Tabla V y Figura 4.6). La gran variabilidad encontrada entre los cultivares estudiados, con respecto a la producción de grano, muestra la existencia de cultivares que no dependen de los bajos niveles de Zn extractable en los suelos sobre los que se desarrollan, siendo ésta una característica positiva a la hora de su posterior selección.

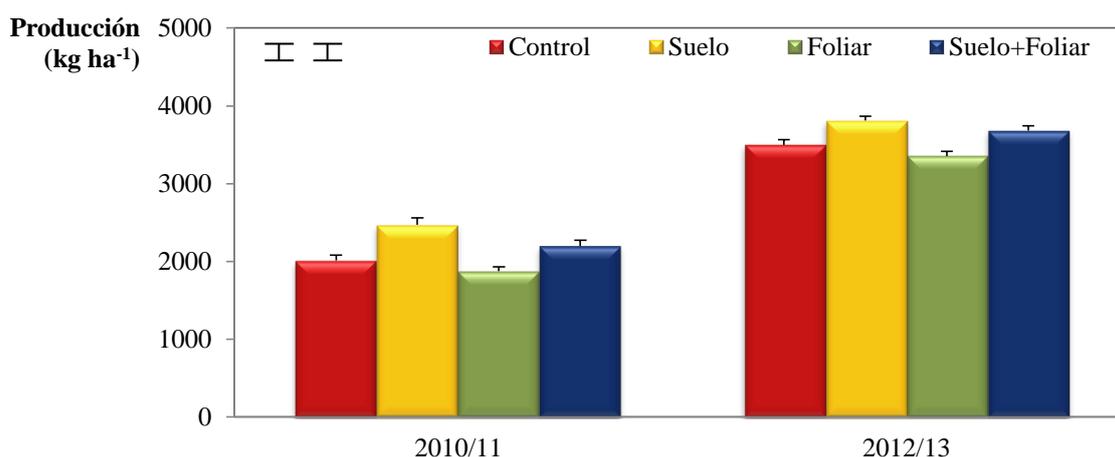


Figura 4.7. Efecto de los tratamientos con Zn fertilizante sobre la producción de grano, durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P < 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

En cuanto a la respuesta de la producción a los diferentes tratamientos sobre los cultivares estudiados, ésta aumentó en 2010/11 desde 2.010 ± 69 kg ha⁻¹ en el tratamiento control a 2.470 ± 88 kg ha⁻¹ por la aplicación de Zn al suelo, seguida de la aplicación combinada suelo y foliar con 2.199 ± 71 kg ha⁻¹. En el año 2012/13, las producciones se incrementaron desde 3.497 ± 70 kg ha⁻¹ en el tratamiento control, a 3.809 ± 56 kg ha⁻¹ por la aplicación de Zn al suelo y 3.682 ± 61 kg ha⁻¹ por la aplicación combinada de Zn suelo+foliar, es decir, la aplicación de Zn fertilizante al suelo, produjo un incremento medio en la producción de aproximadamente 400 kg ha⁻¹. Sin embargo, la aplicación de Zn fertilizante foliar no produjo un aumento significativo con respecto al tratamiento control en ninguno de los años de estudio (Tabla V y Figura 4.7). Si estos datos los referimos a sus eficiencias, siendo éstas calculadas como la producción de grano de cada uno de los tratamientos respecto al tratamiento control, es decir, sin aplicación de Zn, la aplicación de



Zn al suelo obtuvo la mejor eficiencia, con un valor medio de un 14%, valores similares a los comunicados por Cakmak *et al.* (1996c), Yilmaz *et al.* (1997), Hussain *et al.* (2012) y Zou *et al.* (2012) quienes encontraron aumentos en la producción entre un 13,7% y un 16% en la Anatolia (Turquía) y Pakistán. Sin embargo, estos incrementos fueron superiores a los transmitidos por Zou *et al.* (2012) en 14 localizaciones de 7 países, quienes hallaron un aumento medio del 5,1% por la aplicación de Zn al suelo frente a la no aplicación. La aplicación combinada suelo y foliar fue la segunda forma de aplicación más eficiente en este estudio, con una eficiencia en el año medio, de un 7%, siendo este valor similar al alcanzado por Zou *et al.* (2012) en Paquistán, pero no así en los otros seis países en los cuales, la aplicación de foliar Zn fertilizante, no produjo incrementos significativos en la producción. Las plantas necesitan adecuadas cantidades de Zn extractable en las primeras etapas de crecimiento para un mejor desarrollo del sistema radicular, capaz de absorber eficazmente agua y nutrientes (Rengel y Graham, 1995b; Yilmaz *et al.*, 1998), de tal forma que si la cantidad de Zn-DTPA en el suelo es muy baja, como ocurre en este estudio, esto puede ser un factor limitante, pero si se aplica la cantidad adecuada de Zn al suelo durante la siembra, el incremento en los rendimientos es más elevado que en suelos en los que el Zn no es un factor limitante (Graham *et al.*, 1992; Cakmak *et al.*, 1996d) (Tabla 4.1). La aplicación foliar, aunque en algunas experiencias han provocado ligeros incrementos en la producción (Yilmaz *et al.*, 1997; Karim *et al.* 2012), en el presente estudio no provocó efecto significativo en ninguno de los años estudiados (Tabla V), al igual que Zou *et al.* (2012) y Ghasemi *et al.* (2013) en Irán.

Los cultivares estudiados obtuvieron diferentes respuestas a la fertilización con Zn en su producción. Mientras INIAV-1 y Nabão fueron los cultivares con mejores producciones en el año 2010/11 independientemente del tratamiento aplicado, INIAV-2, INIAV-6 e INIAV-10 lo fueron en 2012/13, todos ellos con producciones superiores a 2.600 y 3.700 kg ha⁻¹ respectivamente. Los cultivares INIAV-1, INIAV-6 e INIAV-9 fueron los que estuvieron por encima de la media en todos los tratamientos y por tanto, deben ser tenidos en cuenta de cara a la selección de cultivares más productivos, mientras que por el contrario, INIAV-4 fue el cultivar que menos producción obtuvo (Tabla V y Figura 4.6). Por tanto, se pone de manifiesto la gran variabilidad genética presente en este estudio, con diferencias de producciones entre los diferentes cultivares de más de 1.000 kg ha⁻¹.



4.3.4. Peso de mil granos y peso hectolitro

El peso de mil granos y peso hectolitro son dos de los parámetros más importantes medidos en la industria harinera debido a que por un lado, valores mayores del peso hectolitro, es decir, elevados pesos de trigo en un mismo volumen, constituyen un indicador de mayor calidad al poseer una mayor facilidad en el procesado, obteniendo así mayores producciones de harina; mientras que por otro, un gran número de granos pequeños tienen consecuencias negativas en el peso de mil granos y en la eficiencia de la molienda (Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003).

En la Tabla 4.6 se observa la ANOVA para el peso de los mil granos y del peso hectolitro efectuado. Ambos parámetros estuvieron significativamente influenciados por el año, el cultivar estudiado, así como por las interacciones año x tratamiento de Zn, año x cultivar, y año x tratamiento de Zn x cultivar (excepto peso hectolitro). El tratamiento con Zn fertilizante sólo afectó significativamente al peso hectolitro.

Tabla 4.6. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de los parámetros peso de mil granos y peso hectolitro, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Peso mil granos	Peso Hl
Año	1	618,92***	182,98***
Tratamiento Zn	3	0,94 <i>ns</i>	3,55*
Cultivar	12	122,07***	10,96***
Año x Tratamiento Zn	3	10,51**	5,61*
Año x Cultivar	12	12,94***	4,23***
Tratamiento Zn x Cultivar	36	1,34 <i>ns</i>	0,92 <i>ns</i>
Año x Tratamiento de Zn x Cultivar	36	1,57*	0,99 <i>ns</i>

ns, no significativo; *, **, *** Significación a un 0,05, 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente

Tanto el peso de los mil granos como el peso hectolitro fueron mayores en 2012/13 ($40,1 \pm 0,3$ g y $83,7 \pm 0,1$ kg hl⁻¹, respectivamente) que en 2010/11 ($35,8 \pm 0,3$ g y $76,1 \pm 0,3$ kg hl⁻¹, respectivamente) (Tablas VI y VII). Este hecho, al igual que la mayor producción de grano, es explicado debido al periodo sin precipitación acaecida durante la fase de antesis y llenado de grano (Figura 4.2) junto a una temperatura media inferior en los meses de abril y mayo del año 2012/13, situándose más próximos a los valores que Chowdhury y Wardlaw (1978) estimaron óptimos para esta etapa del desarrollo (15-18° C).

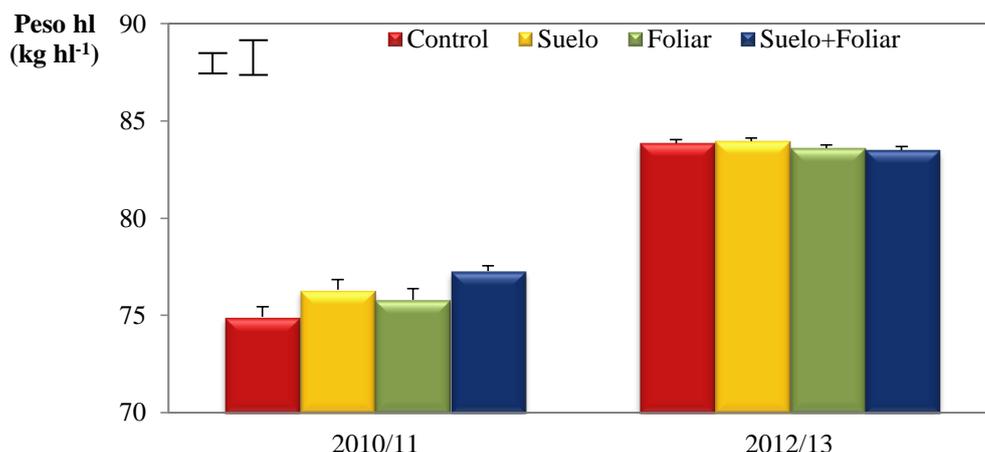


Figura 4.8. Efecto del Zn fertilizante sobre el peso hectólitro en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

Para ambos parámetros, existe una gran variabilidad en el germoplasma estudiado. Así, en 2010/11 estos valores, en el tratamiento control, oscilaron desde $28,8 \pm 1,9$ g y $70,4 \pm 4,1$ kg hl⁻¹, hasta $39,7 \pm 0,5$ g y $79,9 \pm 1,2$ kg hl⁻¹, con un valor medio de $35,4 \pm 0,8$ g y $74,9 \pm 0,5$ kg hl⁻¹, mientras que en 2012/13 oscilaron entre $32,7 \pm 0,5$ g y $81,8 \pm 0,5$ kg hl⁻¹, hasta $42,2 \pm 0,3$ g y $85,7 \pm 0,1$ kg hl⁻¹ en 2012/13, con unos valores medios de $40,3 \pm 0,5$ g y $83,9 \pm 0,2$ kg hl⁻¹, respectivamente. En el año medio la aplicación de Zn fertilizante no provocó efecto en el peso de mil granos aunque sí incrementó el peso hectólitro, no existiendo diferencias significativas entre la aplicación foliar, al suelo, o combinada suelo + foliar, siendo estas dos últimas las que presentaron valores superiores a 80 kg hl⁻¹ (Tabla VII y Figura 4.8), por lo que pueden ser clasificados como trigos de calidad extra de acuerdo al Reglamento CE 824/2000 y al RD 1615/2010. Si se analizan los años de forma independiente, mientras en el año 2010/11 el peso hectólitro siguió la misma tendencia que el año medio, con un ligero incremento del peso al realizarse cualquier forma de aplicación de Zn fertilizante, en el año 2012/13 no se produjeron diferencias entre los tratamientos (Tabla VII y Figura 4.8).

En relación al peso de mil granos, en 2010/11 la aplicación foliar, aislada o combinada con la aplicación al suelo, produjeron los mayores pesos del grano, aunque sin diferencias significativas con el tratamiento control. Sin embargo, en el año 2012/13 la aplicación combinada fue significativamente la de menor peso, aunque con diferencias en torno a 1 g (Tabla VI y Figura 4.9).

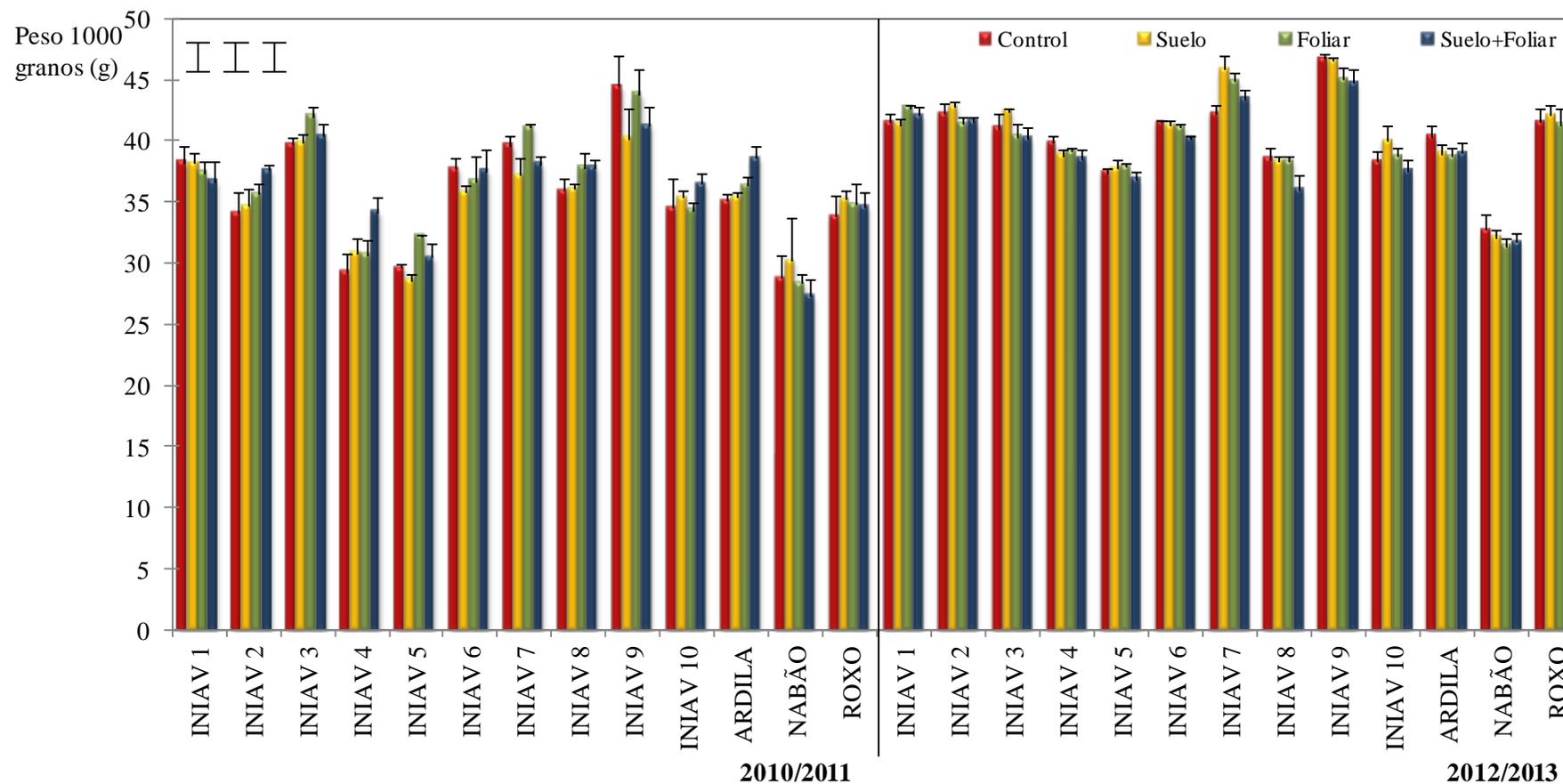


Figura 4.9. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y cultivares estudiados sobre el peso de mil granos durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año.



Con respecto a los cultivares estudiados, el cultivar INIAV-9 obtuvo el mayor peso de los mil granos en cada uno de los años, con valores de $42,4 \pm 1,0$ g y $45,7 \pm 0,2$ g, respectivamente, mientras que Nabão fue el de menor peso de grano, mostrando que el peso de los mil granos es un componente de producción determinado, en gran medida, por la genética del cultivar.

A diferencia del peso de mil granos, el cultivar INIAV-9 presentó el menor peso de hectolitro en ambos años ($73,9 \pm 0,8$ kg hl⁻¹ y $82,3 \pm 0,2$ kg hl⁻¹), además de INIAV-8 en 2010/11, e INIAV-7 en 2012/13; mientras que INIAV-1, INIAV-5 y Nabão en 2010/11, y Roxo en ambos años, fueron los de mayor peso hectolitro, todos ellos con valores superiores a 77 kg hl⁻¹ en 2010/11 y a 85 kg hl⁻¹ en 2012/13 (Tabla VI y VII, Figuras 4.9 y 4.10).

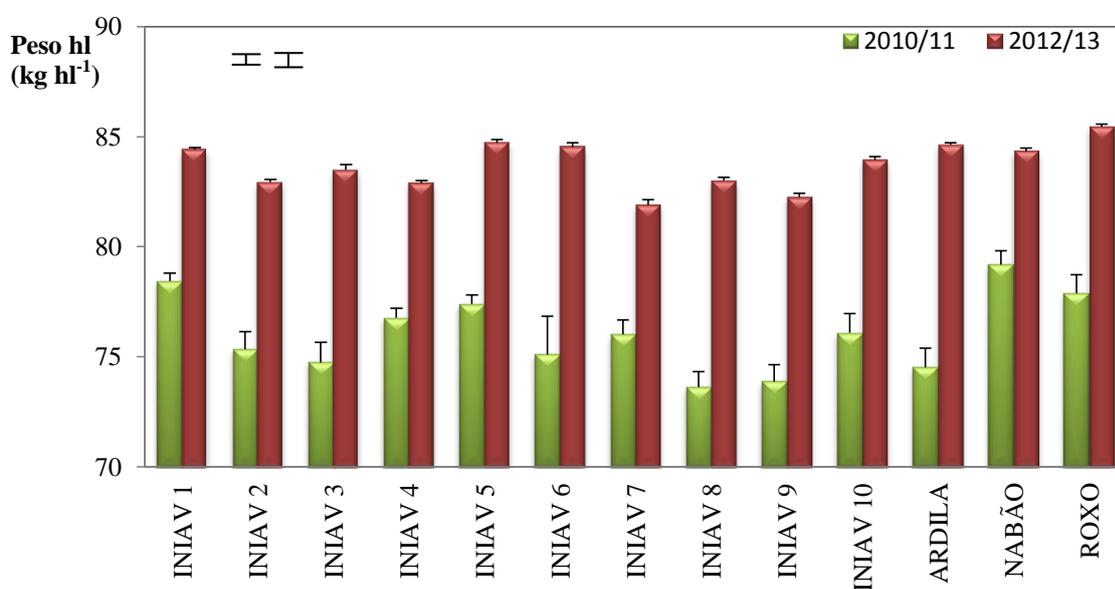


Figura 4.10. Efecto de los cultivares estudiados sobre el peso hectólitro en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

Estos resultados ponen de manifiesto como ambos parámetros están gobernados tanto por una fuerte influencia genética (Geleta *et al.*, 2002; Rangel *et al.*, 2004) como por la influencia ambiental (Fowler, 1986) así como por su interacción, como ya enunciaron Ruza (2003), Anda y Antos (2004), Rangel *et al.* (2004) y Bilgin *et al.* (2011).



4.3.5. Parámetros de calidad.

Los diferentes parámetros de calidad han sido estudiados con el objetivo de la obtención de cultivares con unas propiedades, tanto nutricionales como de procesado, óptimas. Este es al caso de las proteínas, pudiendo ser definidas como compuestos orgánicos cuaternarios de alto peso molecular y constituidos por cadenas de aminoácidos con radicales que poseen grupos amínicos (NH_2), y grupos carboxílicos (COOH) (MAPA, 1989). Las proteínas son elementos esenciales en toda célula viva y son utilizadas, en la industria harinera, como uno de los índices de calidad más importantes. Además de éste, otros parámetros determinarán su calidad, como el índice de sedimentación SDS que determina la calidad de las proteínas por sus contenidos de aminoácidos específicos para la calidad de gluten (MAPA, 1989); y el contenido de cenizas que permite clasificar las harinas en función del grado de extracción (kilogramos de harina obtenidos cada 100 kg de trigo molido), por lo que un bajo contenido de cenizas en la harina indica un bajo nivel de contaminación con salvado (Barrera *et al.*, 2012). Así, el salvado puede ser definido como la fracción del grano formada por el pericarpio, las capas de aleurona, la epidermis nucelar y la testa, que contiene una elevada proporción de minerales y de fibras (Hoseney, 1994).

En la Tabla 4.7 se representa la ANOVA de los parámetros de calidad estudiados: proteína, índice de sedimentación (SDS) y cenizas, observándose un efecto significativo de los años de estudio, de la aplicación de Zn (a excepción de la proteína) y del cultivar, debido a la carga genética que tienen estos parámetros. Además se pudo apreciar un efecto significativo de la interacción año x tratamiento de Zn, año x cultivar (a excepción del contenido de cenizas), y en la interacción año x tratamiento de Zn x cultivar, sólo para el índice de sedimentación SDS.

Tabla 4.7. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de los parámetros de calidad proteína, SDS y cenizas en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Proteína	SDS	Cenizas
Año	1	444,60***	236,18***	95,41***
Tratamiento Zn	3	1,48 <i>ns</i>	21,41***	10,84***
Cultivar	12	10,38***	83,80***	3,16***
Año x Tratamiento Zn	3	3,57*	15,95***	19,75***
Año x Cultivar	12	4,90***	14,77***	1,39 <i>ns</i>
Tratamiento Zn x Cultivar	36	0,75 <i>ns</i>	1,45 <i>ns</i>	1,57 <i>ns</i>
Año x Tratamiento de Zn x Cultivar	36	0,87 <i>ns</i>	1,57*	1,21 <i>ns</i>

ns, no significativo; *, *** Significación a un 0,05 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente



El contenido de proteína, índice SDS y porcentaje de cenizas fueron significativamente mayores en 2010/11 ($14,6 \pm 0,1\%$, $64,5 \pm 0,9$ mm y $1,68 \pm 0,01\%$, respectivamente) que en 2012/13 ($9,4 \pm 0,1\%$, $52,8 \pm 0,6$ mm y $1,42 \pm 0,01\%$, respectivamente) (Tablas VIII, IX y X). Como es sabido las variaciones de temperatura, radiación solar y humedad del suelo durante el llenado del grano son factores muy influyentes en la calidad del trigo (Rao *et al.*, 1993), destacando la distribución de las precipitaciones como el factor externo que más influencia ejerce sobre el mismo (Johnson y Mattern, 1987; Stoddard y Marshall, 1990). El metabolismo del nitrógeno tiene un óptimo térmico superior a la temperatura óptima del desarrollo de la planta, por lo que las altas temperaturas favorecerán más la acumulación de N que la del almidón (Cook y Veseth, 1991; Gate, 1995; López-Bellido *et al.*, 2001). Chowdhury y Wardlaw (1978), Bhullar y Jenner (1985) y Passarella *et al.* (2002) indicaron que a pesar del cese prematuro de la acumulación de almidón a temperaturas superiores a 30° C, la acumulación de proteína no se verá afectada, aumentando incluso su porcentaje en el grano. Estos resultados se deben a que la principal fuente de proteínas para el grano de los cereales C3 la constituye la Rubisco de las hojas (Nair y Chatterjee, 1990; Jenner *et al.*, 1991a), cuya hidrólisis se ve acelerada por el aumento de la senescencia causado por la temperatura. La acumulación de almidón por tanto, es más sensible que la acumulación de proteína (Savin y Nicolas, 1996), decreciendo el contenido proteico del grano al aumentar éste su tamaño (Angelido *et al.*, 1997; Poblaciones, 2007). Por todo lo expuesto, durante la fase de llenado las condiciones del clima mediterráneo ofrecen una oportunidad única para la producción de trigos de elevada calidad (Borghetti *et al.* 1997; López-Bellido *et al.* 2001; Garrido-Lestache *et al.*, 2004; Poblaciones, 2007). Así, en el presente estudio las temperaturas en la fase de llenado del grano, es decir, las temperaturas del mes de mayo, fueron superiores en 2010/11 que en 2012/13, con $28,1^{\circ}$ C y $25,0^{\circ}$ C de temperaturas máximas respectivamente, favoreciendo una mayor acumulación de proteínas en el primer año (Figura 4.1).

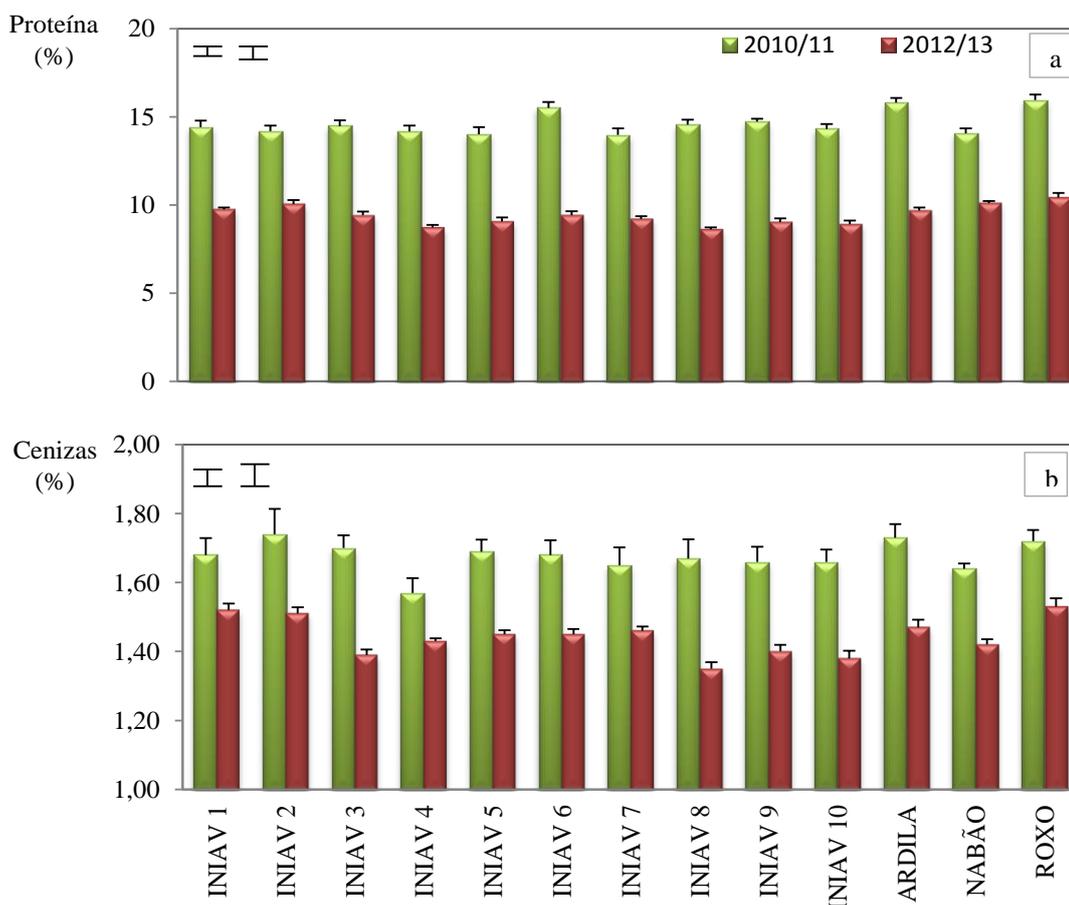


Figura 4.11. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de proteínas (a) y cenizas (b) en el grano, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

El contenido de proteínas y cenizas, así como el índice de sedimentación SDS, en el tratamiento control, presentaron una gran variabilidad en el germoplasma estudiado. Así, el contenido proteico varió desde $13,9 \pm 0,2\%$ hasta $16,0 \pm 0,4\%$ en 2010/11, y desde $8,8 \pm 0,3\%$ hasta $11,1 \pm 1,0\%$ en 2012/13, con un valor medio de $14,7 \pm 0,1\%$ y $9,6 \pm 0,1\%$ respectivamente. Los cultivares Ardila y Roxo, en ambos años, INIAV-4, INIAV-8, INIAV-9 e INIAV-10, en 2010/11, e INIAV-2, INIAV-3, INIAV-6 y Nabão, en 2012/13, obtuvieron un contenido proteico en grano superior a la media en el tratamiento control (Tabla VIII). Con respecto al índice de sedimentación SDS, éste varió desde $41,0 \pm 0,7$ hasta $81,0 \pm 5,6$ mm en 2010/11, y desde $47,7 \pm 3,3$ hasta $66,7 \pm 3,3$ mm, con unos valores medios, para cada año de estudio, de $67,0 \pm 1,8$ mm y $55,6 \pm 1,1$ mm respectivamente, siendo los cultivares INIAV-5, INIAV-6, INIAV-7, INIAV-10 y Nabão en ambos años, así como INIAV-4 e INIAV-8 en 2010/11 y Roxo en 2012/13, los que presentaron valores



superiores a la media. La gran variabilidad encontrada, también para este parámetro, queda de manifiesto en las diferencias existentes entre los distintos cultivares dentro de cada tratamiento, con diferencias superiores a 25 mm en 2010/11 y a 20 mm en 2012/13 (Tablas VIII y IX, y Figuras 4.11 y 4.13).

El contenido de cenizas para este tratamiento, varió desde $1,46 \pm 0,20\%$ hasta $1,64 \pm 0,16\%$ en 2010/11, y desde $1,33 \pm 0,04\%$ hasta $1,59 \pm 0,07\%$ en 2012/13, con un contenido medio, para cada año de estudio, de $1,55 \pm 0,02\%$ y $1,44 \pm 0,01\%$ respectivamente, siendo los cultivares INIAV-1, INIAV-5, Ardila y Roxo en ambos años, además de INIAV-3, INIAV-10 y Nabão en 2010/11, e INIAV-2 en 2012/13, los cultivares que obtuvieron un contenido superior a la media para el tratamiento control (Tabla X y Figura 4.11). Por tanto, los cultivares INIAV-10, Ardila, Nabão y Roxo, presentaron los valores mayores para estos índices de calidad estudiados sin la aplicación de Zn.

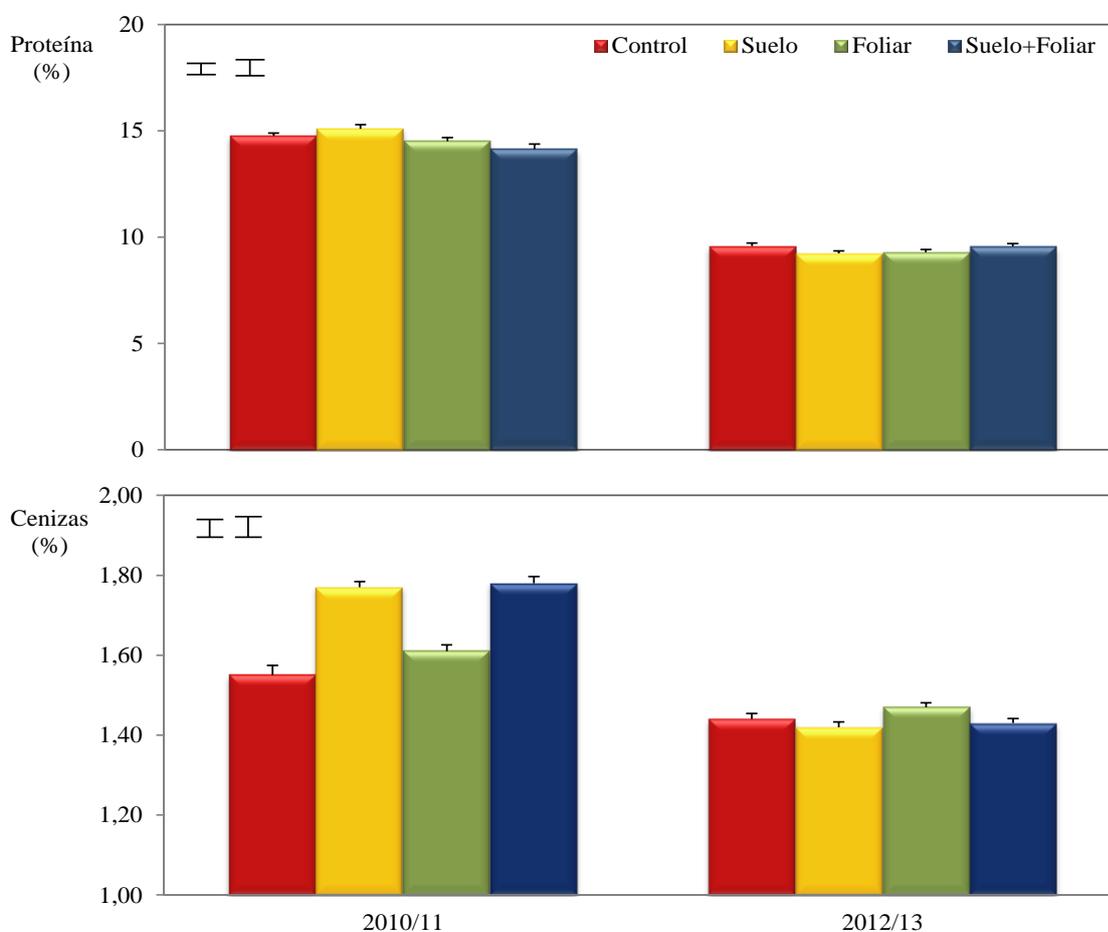


Figura 4.12. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de proteína y cenizas, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de cada figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.



Las diferentes formas de aplicación de Zn no tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de proteína en el grano en ambos años (Tabla VIII y Figura 4.12). Así, los resultados obtenidos estuvieron en consonancia con los datos expuestos por Yang *et al.* (2011) en los que, en un trabajo realizado en el Este de China con fertilización foliar con Zn, no se obtuvo una respuesta significativa sobre el contenido proteico. Sin embargo, otros autores como Ozturk *et al.* (2006) y Cakmak *et al.* (2010) encontraron que tras la aplicación de Zn el contenido de proteína del grano aumentaba al ser requerido en la biosíntesis de proteínas (Marschner, 1995a; Cakmak *et al.*, 1989; Peck *et al.*, 2008), siendo utilizado en más del 10% de las proteínas del sistema biológico para su funcionamiento e integridad estructural (Andreini *et al.*, 2006).

El índice de sedimentación SDS se vio afectado por la aplicación de Zn fertilizante al suelo, ya sea aislado o en combinación con la aplicación foliar, los cuales redujeron significativamente dicho índice, además de la aplicación foliar en el año 2012/13 (Tabla IX y Figura 4.13).

El contenido de cenizas, siguió la misma tendencia que la producción de granos en 2010/11, siendo la aplicación al suelo y la aplicación combinada suelo + foliar, las que incrementaron de forma más notable el contenido de cenizas, mientras que en 2012/13 solamente la aplicación foliar fue la que incrementó el contenido de cenizas en el grano (Tabla X, Figura 4.12).

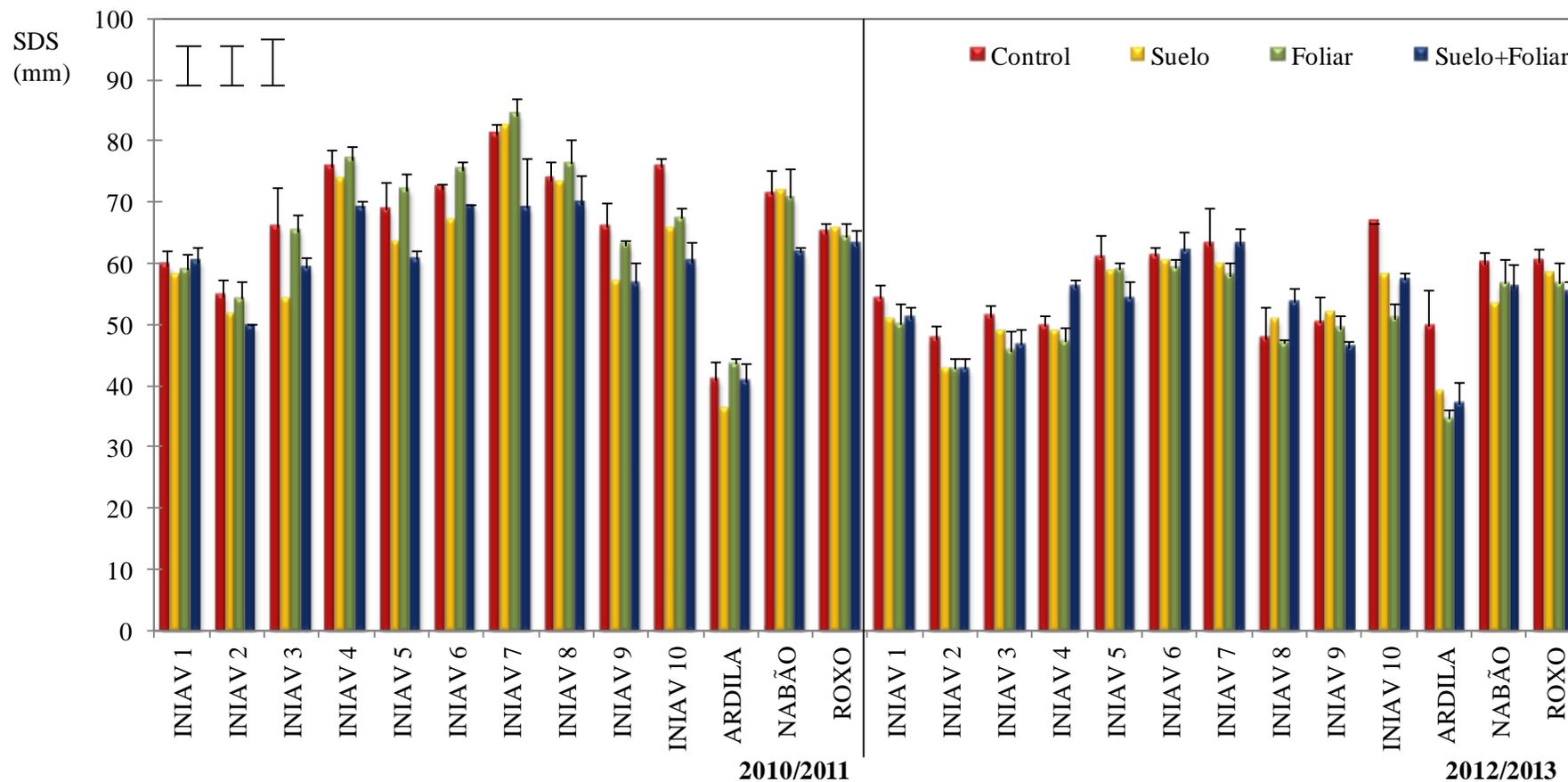


Figura 4.13. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y los cultivares estudiados sobre el índice de sedimentación SDS durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año.



Como media de todos los tratamientos, los cultivares Ardila y Roxo obtuvieron el mayor contenido proteico en el año medio, además del cultivar INIAV-6 en 2010/11, con más del 15,5%, e INIAV-2 y Nabão en 2012/13 con contenidos mayores al 10%. Sin embargo, los cultivares INIAV-4 e INIAV-8 fueron los de menor contenido proteico en ambos años (Tabla VIII y Figura 4.11). Respecto al índice de sedimentación SDS, el cultivar INIAV-7 destacó significativamente tanto en el año medio como en cada año estudiado independientemente (junto con INIAV-5, INIAV-6 e INIAV-10 en 2012/13) como los cultivares que obtuvieron el mayor índice de sedimentación SDS, con valores superiores a 75 mm en 2010/11, y a 55 mm en 2012/13, mientras que por el contrario, Ardila fue el de menor índice en todos los casos (Tabla IX y Figura 4.13). El contenido de cenizas fue significativamente mayor, en el año medio, en los cultivares INIAV-1, INIAV-2, INIAV-3, INIAV-5, INIAV-6, INIAV-7, Ardila y Roxo, además de los cultivares INIAV-8, INIAV-9 e INIAV-10 en 2010/11, con más de 1,50%. Por el contrario, los cultivares INIAV-4, en 2010/11, e INIAV-8 en 2012/13, obtuvieron el contenido de cenizas más bajo, aunque con diferencias medias entre variedades de menos de 0,1% (Tabla X, Figura 4.11). Como resumen, se puede afirmar que los cultivares estudiados presentan una gran variabilidad en términos de calidad, siendo Ardila y Roxo los que presentaron los mayores contenidos, de media, de proteína y cenizas, mientras que INIAV-7 presentó el mayor índice de sedimentación.

4.3.6. El Zinc en el grano

La mejora genética tradicional de cereales se ha centrado en el incremento de la producción de granos, la resistencia a plagas y enfermedades, y la tolerancia a diferentes tipos de estrés ambiental como la sequía o la salinidad. Sin embargo, desde que la biofortificación de alimentos con Zn es considerada como una de las soluciones más económicas a su deficiencia en el ser humano (Bouis *et al.*, 2011), los programas de biofortificación genética se han centrado en dos aspectos claves: i) seleccionar los cultivares más eficientes en la acumulación de Zn en el grano, tanto en suelos deficientes como en aquellos con contenidos normales de Zn (White y Broadley, 2005a y 2008; Ortiz-Monasterio *et al.*, 2007); y ii) evaluar la eficacia de los diferentes métodos de fertilización sobre la acumulación de Zn en el grano de los diferentes cultivares.



En la Tabla 4.8 se muestra la ANOVA para el contenido de Zn en el grano y la acumulación de Zn por hectárea (resultante de multiplicar la producción de grano por el contenido de Zn en el mismo). Se observó un efecto significativo de los años de estudio, la aplicación de Zn fertilizante, del cultivar estudiado, así como de las interacciones año x tratamiento de Zn, año x cultivar, tratamiento de Zn x cultivar (a excepción del Zn total), y de la interacción triple año x tratamiento de Zn x cultivar (a excepción del Zn total).

Tabla 4.8. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) del contenido de Zn en grano y del Zn acumulado por hectárea, en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Contenido de Zn en grano	Acumulación de Zn ha ⁻¹
Año	1	198,6***	33,2**
Tratamiento Zn	3	825,1***	266,7***
Cultivar	12	4,9***	13,2***
Año x Tratamiento Zn	3	19,5***	54,9***
Año x Cultivar	12	2,3***	6,2***
Tratamiento Zn x Cultivar	36	1,5 <i>ns</i>	1,7*
Año x Tratamiento de Zn x Cultivar	36	1,4 <i>ns</i>	1,6*

ns, no significativo; *, **, *** Significación a un 0,05, 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente.

Mientras que en 2010/11 el contenido de Zn en el grano fue significativamente mayor que en 2012/13 (46 ± 1 vs. 32 ± 1 mg kg⁻¹, respectivamente), la acumulación de Zn por hectárea siguió la tendencia contraria, habiendo sido significativamente mayor en 2012/13 que en 2010/11 (como media 114 ± 4 vs. 97 ± 3 g ha⁻¹, respectivamente) (Tablas XI y XII). Éste hecho puede ser explicado por efecto de las mayores producciones de grano de 2012/13. Aunque la precipitación total fue similar en los dos años de estudio, la severa y prolongada sequía acaecida durante la antesis (abril y mayo) en 2010/11 fue la principal responsable de las menores producciones de dicho año, redundando en una menor acumulación de Zn por hectárea en 2010/11. Como ya comprobara Cakmak *et al.* (1996c), precipitaciones anuales bajas o periodos de escasez de lluvias, pueden considerarse como uno de los principales causantes de deficiencia de Zn en las plantas. Por tanto, la irregularidad pluviométrica típica de las condiciones mediterráneas puede provocar inconsistencia en la toma y acumulación de Zn en los granos después de tratamientos fertilizantes con Zn. En consecuencia, bajo estas especiales condiciones, el establecimiento de un programa eficaz de biofortificación agronómica con Zn se torna más complejo, ya que en su manejo se debe prestar una especial atención a las precipitaciones.

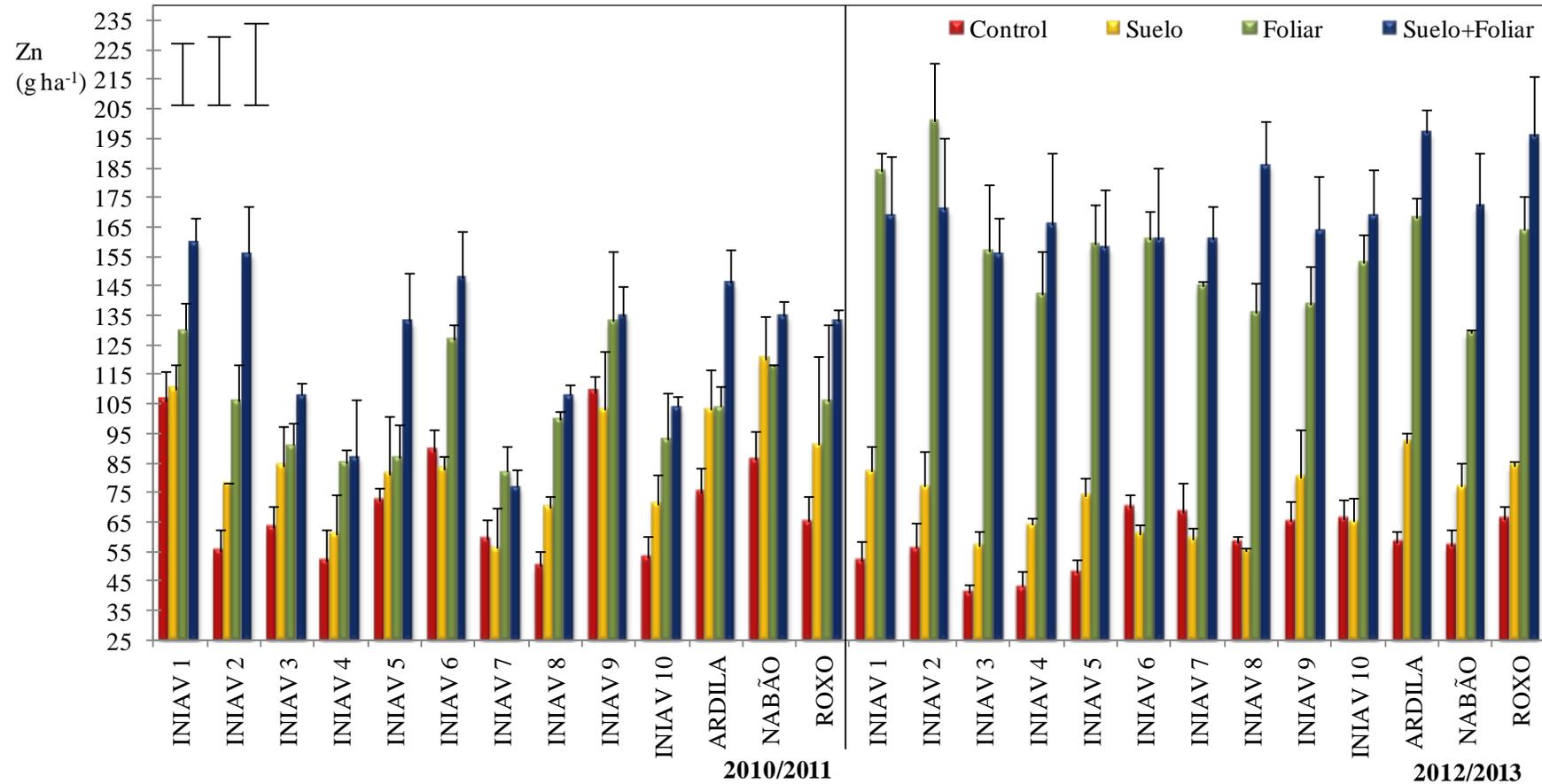


Figura 4.14. Figura 4.6. Efecto de los diferentes tratamientos con Zn fertilizante y los cultivares estudiados, sobre el Zn captado por hectárea durante los años agrícolas 2010/11 y 2012/13, bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de: a la izquierda, al mismo nivel de año y tratamiento, en el centro al mismo nivel de año, y a la derecha, a diferentes niveles de año.



En el tratamiento control, el contenido de Zn en el grano y su acumulación por hectárea varió ampliamente, desde $31 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$ y $50 \pm 5 \text{ g ha}^{-1}$, hasta $46 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$ y $109 \pm 6 \text{ g ha}^{-1}$ en 2010/11, respectivamente; mientras que en 2012/13 varió desde $12 \pm 1 \text{ mg kg}^{-1}$ y 41 g ha^{-1} , hasta $20 \pm 2 \text{ mg kg}^{-1}$ y $70 \pm 5 \text{ g ha}^{-1}$, siendo el contenido medio de $36 \pm 1 \text{ mg kg}^{-1}$ y $72 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ en 2010/11, y $17 \pm 1 \text{ mg kg}^{-1}$ y $57 \pm 2 \text{ g ha}^{-1}$ en 2012/13 (Tablas XI y XII, y Figura 4.14), mostrando una adecuada variabilidad genética. Esta variabilidad, requisito fundamental para la consecución de un programa de biofortificación genética exitoso, ha sido comprobada en diversos programas tanto de líneas avanzadas (Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Rawat *et al.*, 2009; Tiwari *et al.*, 2010), como de variedades comerciales (Cakmak, 2002; Cakmak *et al.*, 2004; Pfeiffer y McClafferty, 2007; Ghasemi *et al.*, 2013). Los valores encontrados están en consonancia con los hallados por Terrés *et al.* (2001) en el Sureste de España, y Galinha *et al.* (2013) en el Suroeste de la Península Ibérica, así como con los encontrados por otros autores en diversos lugares del planeta con valores entre 20 y 35 mg kg^{-1} (Rengel *et al.*, 1999; Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Cakmak *et al.*, 2004), siendo estas concentraciones iniciales insuficientes, al considerarse 45 mg Zn kg^{-1} el contenido que deben tener los granos de trigo para la adecuada alimentación de las personas (Pfeiffer y McClafferty, 2007). Cuando no se realizó ninguna aplicación de Zn fertilizante, los cultivares INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9, Ardila, Nabão y Roxo fueron los que significativamente mayores concentraciones de Zn acumularon en el grano y por hectárea, mientras que INIAV-4 fue el peor (Tablas XI y XII, y Figura 4.14). Éstos son los cultivares que deben ser tenidos en cuenta como los de alto potencial en producción de granos con mayores contenido en Zn, aun creciendo en suelos de baja disponibilidad de Zn. Sin embargo, el hecho de que sólo INIAV-1 en 2010/11 alcance el nivel objetivo establecido por Pfeiffer y McClafferty (2007) de 45 mg Zn kg^{-1} pone de manifiesto la necesidad de complementar la biofortificación genética con la aplicación de fertilizantes con Zn en zonas deficientes de este elemento, como ya establecieron White y Broadley (2005a), Cakmak (2008b) y Alloway (2009), y en especial en las condiciones de clima mediterráneo semiárido de España y Portugal.

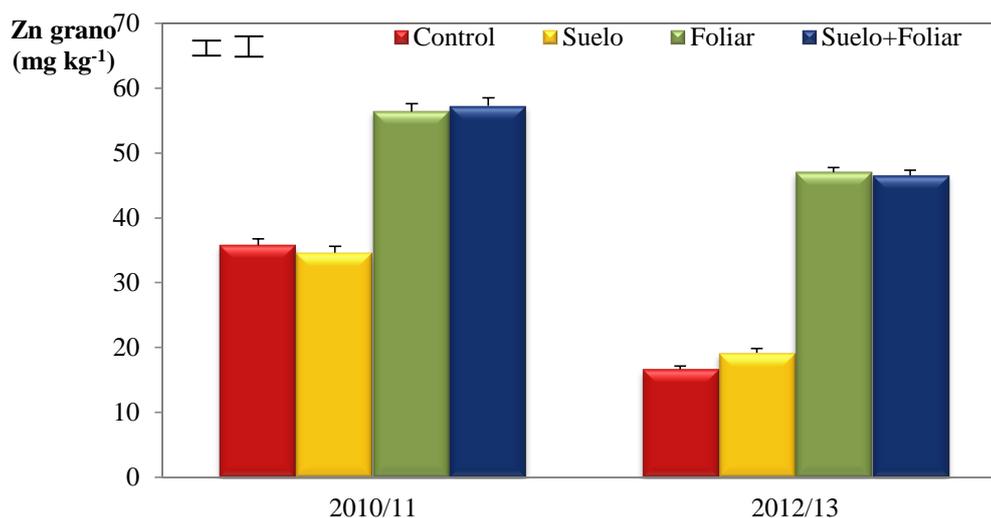


Figura 4.15. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Zn en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

Como era de esperar, la aplicación al suelo no fue efectiva en el aumento del contenido de Zn en el grano aunque si lo fue incrementando las producciones, siendo por tanto interesante desde el punto de vista de los agricultores pero no tanto desde el punto de vista de la biofortificación. Según las investigaciones de Graham *et al.* (2007) y Cakmak *et al.* (2010a), la concentración de Zn en el grano debe aumentar en, al menos, 10 mg kg^{-1} para provocar impactos notables sobre la salud humana. Sólo en 2012/13 la aplicación de Zn al suelo provocó un incremento significativo en el contenido de Zn en el grano, aunque sólo en 2 mg kg^{-1} (Tabla XI y Figura 4.15).

En cuanto a la acumulación de Zn por hectárea, la aplicación de Zn al suelo sí provocó un aumento significativo, con un incremento medio de 14 g Zn ha^{-1} respecto al control, tanto en el año medio como en 2010/11 (Tabla XII). Los cultivares INIAV-1, INIAV-9, Ardila, Nabão y Roxo destacaron tanto en el contenido de Zn en el grano como en la cantidad acumulada por hectárea en la aplicación de Zn al suelo, siendo los cultivares INIAV-4 e INIAV-7 y INIAV-8 los que peores resultados obtuvieron (Tabla XI y XII, Figuras 4.14 y 4.16).

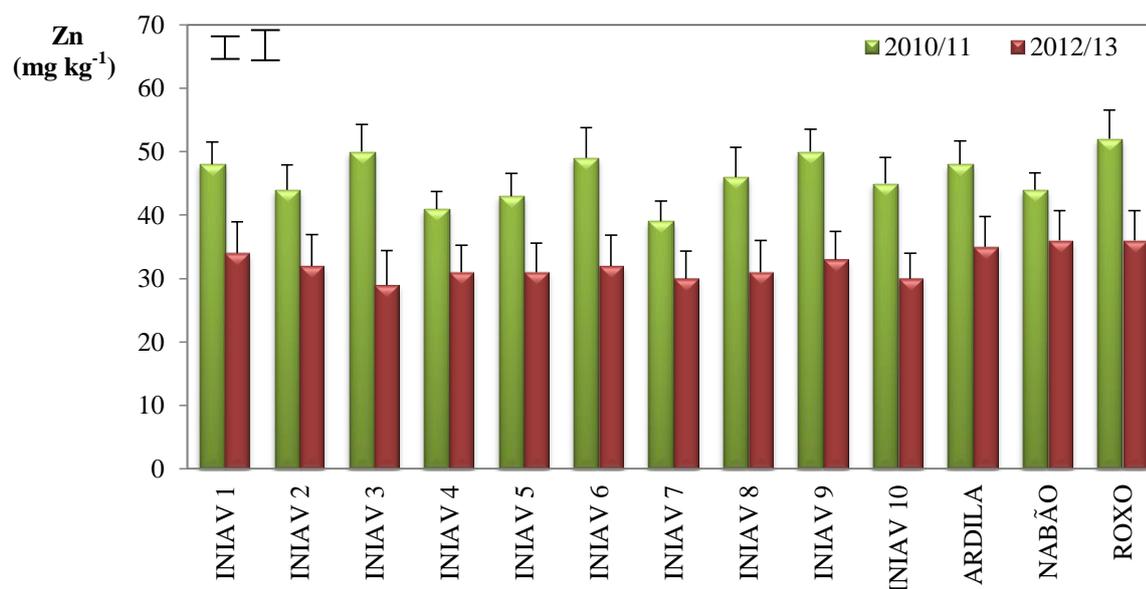


Figura 4.16. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Zn en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

La aplicación foliar de Zn fertilizante, de forma aislada o en combinación con la aplicación al suelo, incrementó de forma significativa las concentraciones de Zn en el grano en todos los cultivares, principalmente debido al aumento de la movilidad del Zn en el floema (Haslett *et al.*, 2001). En el año medio y para todos los cultivares, la concentración de Zn en el grano aumentó de 26 ± 1 a 52 ± 1 mg kg⁻¹ por la aplicación foliar, tanto aislada como combinada con la aplicación al suelo, con incrementos del 55% en 2010/11 y del 176% en 2012/13 (Tabla XI y Figura 4.15). Zhang *et al.* (2010) encontraron incrementos similares al año 2010/11 con un incremento del 68% en el contenido de Zn en el grano mediante la aplicación foliar de Zn. Por tanto, con la aplicación foliar, se alcanzaron los dos niveles que determinan el éxito de un programa de biofortificación: i) que produzcan un aumento en más de 10 mg kg⁻¹ (Graham *et al.*, 2007; Cakmak *et al.*, 2010a); y ii) que se alcancen contenidos de 45 mg kg⁻¹ (Pfeiffer y McClafferty, 2007). Los incrementos producidos por el Zn foliar fueron de media de 20 mg kg⁻¹ y 30 mg kg⁻¹ en los años 2010/11 y 2012/13 respectivamente por la aplicación aislada foliar, y de 21 y 30 mg kg⁻¹ respectivamente por la aplicación combinada suelo+foliar (Tabla XI y Figura 4.15). Con respecto al Zn acumulado por hectárea, las aplicaciones foliar y combinada suelo y foliar fueron igualmente las más efectivas en ambos años, produciéndose un incremento medio, en el año 2010/11 para todos los



cultivares, desde $72 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ para el tratamiento control, hasta $105 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ para la aplicación foliar de Zn fertilizante y $125 \pm 5 \text{ g ha}^{-1}$ para la aplicación combinada suelo y foliar, es decir, se produjeron incrementos entre el 45% y el 74%; mientras que en 2012/13 estos valores incrementaron desde $57 \pm 2 \text{ g ha}^{-1}$ en el tratamiento control hasta $157 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ por la aplicación foliar y hasta $171 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ por la aplicación combinada suelo y foliar, es decir, incrementos entre el 175 y el 200% (Tabla XII y Figura 4.14).

Por tanto, las aplicaciones foliares, solas o combinadas con la aplicación al suelo, fueron las más efectivas, ya que el Zn presente en el grano proviene mayormente de la movilización del Zn almacenado en las hojas (Palmgren *et al.*, 2008). La presencia de altas cantidades de Zn disponibles en los tejidos después de floración es el principal factor limitante para la translocación del mismo al grano (Cakmak *et al.*, 2010a) siempre que el estado nutricional y de humedad de los cultivos sea el adecuado (Zhang *et al.*, 2012) existiendo una relación lineal entre la cantidad de Zn aplicada de esta forma y la cantidad presente en el grano (Zhang *et al.*, 2012). Sin embargo, si la fertilización se realiza de forma combinada suelo y foliar, las concentraciones de Zn en las raíces se reducen y aumenta las concentraciones en los brotes y en el grano (Zhao *et al.*, 2011).

Los cultivares INIAV-1, INIAV-2, INIAV-6, INIAV-8, INIAV-9, Ardila y Roxo destacaron en el año medio, tanto en el contenido total de Zn en el grano como en la cantidad de Zn acumulada por hectárea, por obtener valores superiores a la media tanto en la aplicación foliar como en la aplicación combinada. De nuevo INIAV-4 e INIAV-7 fueron los peores cultivares en ambos tratamientos y para ambos parámetros analizados, aunque aun así alcanzaron el valor de 45 mg kg^{-1} (Tablas XI y XII).

En base a los resultados obtenidos se establece que, por ejemplo, si el consumo diario de pan de trigo en España y Portugal se sitúa de media en 150 g (FEN, 2007; FAO, 2011b; INE, 2014), y elaborado con la ingesta de Zn por consumo de pan integral elaborado con 115 g de harina de grano completo, se situaría como media entre 3 mg Zn por día cuando se utilizara el grano no biofortificado, 4,1 mg Zn por día cuando se utilizara grano biofortificado con Zn fertilizante aplicado al suelo y 6 mg Zn por día cuando el grano hubiera sido biofortificado con Zn fertilizante de forma foliar con Zn (Fig. 4.17). Si la ingesta diaria recomendada (IDR) más aceptada es de $15 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ (Varela,



1994; National Research Council, 2001), estos contenidos supondrían entre el 20 y el 40% de la IDR. El caso más favorable sería el de la variedad comercial Roxo tratado con Zn en suelo y foliar, que con un contenido en grano de 60 mg kg^{-1} de Zn supondría una ingesta de $6,8 \text{ mg Zn}$ por día, un 45% de la IDR, mientras que en uno de los casos más desfavorable, por ejemplo INIAV-8 en las parcelas sin fertilizar, que con 23 mg kg^{-1} de Zn, supondría una ingesta de $2,6 \text{ mg Zn}$ por día, un 17% de IDR (Figura 4.17).

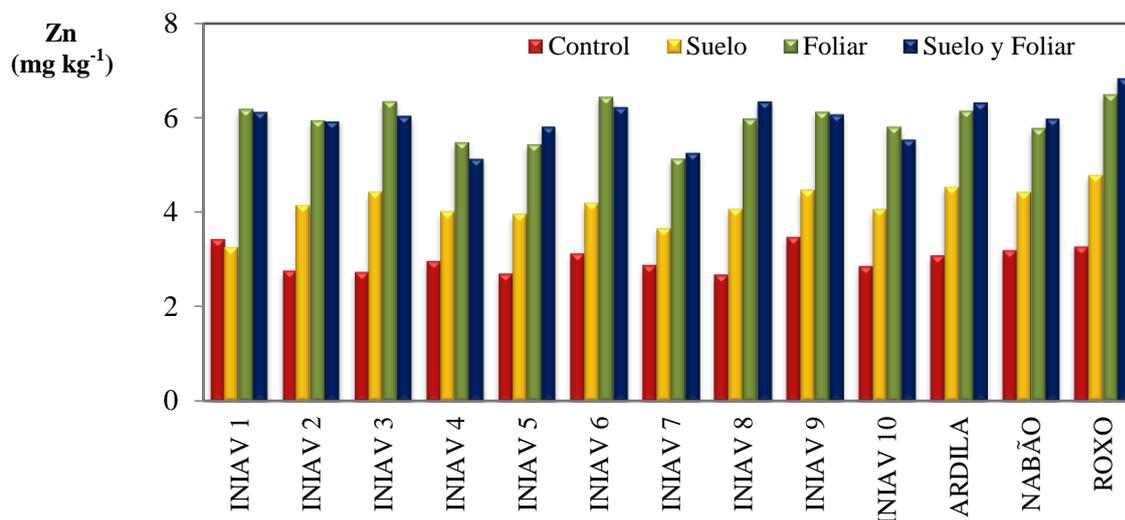


Figura 4.17. Cantidad de Zn aportada por la ingesta de pan de trigo (harina grano completo) establecida por la FEN, 2007; FAO, 2011b; INE, 2014 y elaborado con los cultivares objeto de estudio, realizado con los valores medios de los dos años, y bajo diferentes formas de aplicación de Zn.

Por tanto, el tratamiento con Zn fertilizante más efectivo, desde un punto de vista biofortificador, sería la aplicación foliar que incrementa de media en 30 mg kg^{-1} los contenidos de Zn en grano, siendo el sobrecoste presumiblemente asumido por los consumidores de este pan biofortificado si éste fuera elaborado con harinas de grano completo. La combinación de tratamientos suelo+foliar produce grandes incrementos en el contenido de Zn en el grano, al mismo nivel que la aplicación aislada foliar, además de ligeros incrementos en las producciones, en torno al 6%, aunque sin embargo el coste de la aplicación de $50 \text{ kg ZnSO}_4 - 7 \text{ H}_2\text{O ha}^{-1}$ al suelo incrementaría enormemente los gastos del cultivo, no viéndose compensados por éste incremento.



4.3.7. Interacción del contenido del Zn en el grano con los parámetros de producción y de calidad.

En este apartado se analizan las interacciones existentes entre el contenido de Zn en el grano con la producción de grano, peso de los mil granos, peso hectolitro, así como con el contenido proteico, el índice de sedimentación SDS y el porcentaje de cenizas. Se observa como en los parámetros relacionados con la producción de materia seca, es decir, la producción de grano, peso de mil granos así como el peso hectólitro, presentaron una correlación negativa con el contenido de Zn total en el grano en todos los tratamientos estudiados, siendo fuertemente significativa ($P \leq 0,001$) para la producción y peso hectólitro, no siendo así en el peso de los mil granos que sólo se encontró correlacionado en el tratamiento control y tras la aplicación de Zn fertilizante al suelo. En cambio, se encontró una correlación positiva y altamente significativa ($P \leq 0,001$) entre los parámetros de calidad proteínas y cenizas, y el contenido de Zn el grano. En el caso del índice de sedimentación SDS no se encontró correlación significativa en ninguno de los casos (Tabla 4.9).

Tabla 4.9. Interacción del contenido de Zn en grano con la producción, peso de mil granos, peso hectólitro, contenido de proteína y cenizas, así como el índice de sedimentación SDS, para los diferentes tratamientos realizados con Zn fertilizante, en los años agrícolas 2010/11 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	N	Producción	1000 granos	Peso hl	Proteína	SDS	Cenizas
Control	26	$y = -0,01x + 55,5$ $R^2 = 0,69^{***}$	$y = -1,31x + 76,9$ $R^2 = 0,22^*$	$y = -1,87x + 174,9$ $R^2 = 0,79^{***}$	$y = 3,66 - 17,9$ $R^2 = 0,89^{***}$	$y = 0,5x + 48,7$ $R^2 = 0,24_{ns}$	$y = 76,4x - 87,2$ $R^2 = 0,39^{***}$
Suelo	26	$y = -0,01x + 55,7$ $R^2 = 0,68^{***}$	$y = -1,34x + 77,8$ $R^2 = 0,40^{***}$	$y = -1,78x + 176,2$ $R^2 = 0,72^{***}$	$y = 2,71x - 6,3$ $R^2 = 0,87^{***}$	$y = 0,4x + 45,7$ $R^2 = 0,12_{ns}$	$y = 41,45x - 39,5$ $R^2 = 0,77^{***}$
Foliar	26	$y = -0,01x + 66,4$ $R^2 = 0,60^{**}$	$y = -0,55x + 72,7$ $R^2 = 0,10_{ns}$	$y = -0,97x + 128,9$ $R^2 = 0,51^{***}$	$y = 1,72x + 31,3$ $R^2 = 0,65^{***}$	$y = 0,7x + 24,4$ $R^2 = 0,12_{ns}$	$y = 51,94x - 28,2$ $R^2 = 0,58^{***}$
Suelo + Foliar	26	$y = -0,01x + 70,9$ $R^2 = 0,56^{***}$	$y = -0,51x + 71,3$ $R^2 = 0,07_{ns}$	$y = -1,45x + 168,3$ $R^2 = 0,47^{***}$	$y = 2,48x + 22,5$ $R^2 = 0,75^{***}$	$y = 0,4x + 37,7$ $R^2 = 0,09_{ns}$	$y = 30,54x + 2,6$ $R^2 = 0,68^{***}$
Todos	104	$y = -0,01x + 68,7$ $R^2 = 0,26^{***}$	$y = -1,07x + 79,9$ $R^2 = 0,07_{ns}$	$y = -1,48x + 157,1$ $R^2 = 0,17^{***}$	$y = 2,42x + 10,0$ $R^2 = 0,19^{***}$	$y = 0,1x + 55,2$ $R^2 = 0,02_{ns}$	$y = 45,51x - 31,9$ $R^2 = 0,21^{***}$

ns, no significativo; *, **, *** Significación a un 0,05, 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente.

La correlación negativa encontrada entre la producción de grano y el peso hectólitro con la concentración de Zn en el grano, ha sido reportada por numerosos autores tales como Garvin *et al.* (2006), Morgounov *et al.* (2007), McDonald *et al.* (2008), Peleg *et al.* (2009), Zhao *et al.* (2009) y Gómez-Becerra *et al.* (2010), aunque Graham *et al.* (1999), Ortiz-Monasterio y Graham (2000), Cakmak *et al.* (2004), Fontanetto *et al.* (2006) y Velu *et al.* (2014) no encontraron dicha correlación. Por el contrario, la correlación positiva



encontrada entre la producción y la cantidad de Zn acumulada en grano por hectárea tras la aplicación de Zn foliar y combinada suelo y foliar puede minimizar la asociación negativa anteriormente encontrada, aunque esta reducción de la producción tras la aplicación de Zn fertilizante foliar de media un 5%, puede ser considerada demasiado baja como para suponer un problema.

El peso de mil granos, al igual que en los resultados expuestos por Balint *et al.* (2001), Fontanetto *et al.* (2006), Zhao *et al.* (2009), y Velu *et al.* (2014), no presentó correlación con el contenido de Zn en el grano para el tratamiento foliar y combinado suelo y foliar, mientras que Calderini y Ortiz-Monasterio (2003) reportaron una correlación positiva. Desde el punto de vista práctico, un gran número de granos pequeños tienen consecuencias en la eficiencia de la molienda, que se verá reducida (Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003), mientras que además las semillas de pequeño tamaño y pequeñas cantidades de Zn en las mismas tienen un efecto negativo en el vigor de las plántulas y en la resistencia a enfermedades durante la fase crecimiento (McCay Buis *et al.*, 1995; Rengel y Graham, 1995a; Genc *et al.*, 2000; Richards y Lukacs, 2002).

Una fuerte correlación entre el contenido de Zn con el contenido de proteínas en el grano fue ya encontrada por Feil y Fossati (1995), Cakmak *et al.* (2010a), Gómez-Becerra *et al.* (2010) y Ghasemi *et al.* (2013). La estrecha relación existente entre los genes que afectan a la acumulación de Zn en el grano y al contenido proteico en *Triticum dicoccoides* encontrado por Cakmak *et al.* (2004) puede explicar esta correlación, que supone que en un programa de mejora se pueda aumentar simultáneamente ambos parámetros (Welch y Graham, 2004). Así, Starks y Johnson (1985) y a través del marcador ^{65}Zn mostraron que cuando se incrementan los niveles de Zn disponible la concentración de proteína en el grano aumentaba, almacenándose principalmente en forma de glutenina. Dichos resultados fueron corroborados por numerosos autores, como Hemantaranjan y Garg (1988) y posteriormente Peck *et al.* (2008).

Que el índice de sedimentación SDS no estuviese correlacionado con ninguno de los tratamientos de Zn aplicados (Tabla 4.9) sugiere que su naturaleza radica en la base genética del cultivar estudiado, no siendo afectado por las concentraciones de Zn en el grano. Por otra parte, que el contenido de cenizas, que mide la proporción de aleurona



presente en la muestra, se viera afectado de forma positiva por la aplicación del fertilizante Zn es debido a que la mayoría del Zn del grano se encuentra en la aleurona y en el embrión (Cakmak *et al.*, 2010a) midiendo este parámetro, las cantidades de aleurona presentes en la harina. Por tanto, al incrementar las concentraciones de Zn en el grano, éste hecho se ve contrastado por el incremento en el contenido de cenizas del grano. Así, se puede afirmar que las concentraciones de Zn en la harina de grano completo son mayores que en la harina blanca (Eagling *et al.*, 2014).

4.3.8. Otros elementos nutritivos

Las plantas necesitan una serie de elementos nutricionales para su correcto funcionamiento captando, a través de las raíces, la cantidad de macro y micronutrientes necesarios para formar una red homeostática de metales que envuelven la movilización, captación y distribución en la planta, tráfico intracelular, y almacenamiento. Algunos iones, de estos elementos esenciales, son activadores redox, siendo cofactores catalíticamente activos en muchas metaloenzimas (Hänsch y Mendel, 2009). Los micronutrientes están involucrados en todas las funciones metabólicas y celulares como metabolismo energético, metabolismo primario y secundario, protección celular, regulación génica, señal de transducción, así como en funciones reproductivas, entre muchas otras (Hänsch y Mendel, 2009).

Tabla 4.10. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de macroelementos (K, P, S, Mg, Ca) y microelementos (Fe, Cu y Mn) presentes en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	K	P	S	Mg	Ca
Año	1	86,0***	878,9***	1993,5***	489,5***	7,0*
Tratamiento Zn	3	29,9***	24,3***	10,4***	1,9***	3,1***
Cultivar	12	24,9***	14,1***	17,5***	11,5***	17,5*
Año x Tratamiento Zn	3	5,4***	1,2 <i>ns</i>	6,9***	2,8***	4,4***
Año x Cultivar	12	7,7***	7,1***	7,8***	3,6*	3,5 <i>ns</i>
Tratamiento Zn x Cultivar	36	1,4 <i>ns</i>	5,7***	0,6 <i>ns</i>	1,3 <i>ns</i>	1,1 <i>ns</i>
Año x Tratamiento Zn x Cultivar	36	0,9 <i>ns</i>	1,56*	0,7 <i>ns</i>	0,7 <i>ns</i>	1,2 <i>ns</i>
	g.l.	Fe	Cu	Mn		
Año	1	60,6**	21,3***	236,6***		
Tratamiento Zn	3	60,1***	15,2***	9,0***		
Cultivar	12	8,9***	8,6***	13,0***		
Año x Tratamiento Zn	3	12,4***	14,6***	12,9***		
Año x Cultivar	12	4,1***	3,2***	5,5***		
Tratamiento Zn x Cultivar	36	0,8 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>		
Año x Tratamiento Zn x Cultivar	36	0,8 <i>ns</i>	1,0 <i>ns</i>	0,8 <i>ns</i>		

ns, no significativo; *, **, *** Significación a un 0,05, 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente



En este estudio se analizaron las cantidades presentes, en los diferentes cultivares estudiados, de los macroelementos: potasio (K), fósforo (P), azufre (S), magnesio (Mg) y calcio (Ca); y de los microelementos: hierro (Fe), cobre (Cu) y manganeso (Mn); así como su variación después de la aplicación de los distintos tratamientos con Zn fertilizante. En primer lugar, y tras efectuar la ANOVA, se apreció un efecto significativo del año, del tratamiento con Zn fertilizante y del cultivar, además de la interacción año x tratamiento de Zn (a excepción del P), y año x cultivar (a excepción del Ca). El P además se vio significativamente afectado por las interacciones tratamiento con Zn x cultivar, y año x tratamiento con Zn x cultivar (Tabla 4.10). Algunos autores como Kranner y Colville (2001), estudiaron la existencia de correlaciones positivas entre el Zn con Fe, Cu y Mn presente en el grano, siendo éste hecho debido mayoritariamente a la capacidad de almacenamiento de Zn por las metalotioneínas (MTs), que son proteínas con alto contenido en cisteína, bajo peso molecular, además de alta capacidad de unión a metales. Las MTs juegan un papel fundamental para determinar el contenido de metales en la fase de desarrollo del grano, por lo que su control puede ser una herramienta fundamental para determinar el valor nutricional de las semillas (Cobbett y Goldsbrough, 2002). La primera MT del trigo fue aislada en embriones por Lane *et al.* (1987) y, desde entonces, algunas MTs han sido descubiertas en la expresión de la semilla (Kranner y Colville, 2001).

Los contenidos medios de los elementos en el grano en el año 2010/11 fueron significativamente mayores que en 2012/13 en P ($0,42 \pm 0,01\%$ vs. $0,33 \pm 0,01\%$), S ($0,17 \pm 0,01\%$ vs. $0,12 \pm 0,01\%$), Mg ($0,13 \pm 0,01\%$ vs. $0,10 \pm 0,01\%$), Fe ($35,7 \pm 0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ y $32,8 \pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$), Cu ($3,5 \pm 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ y $3,1 \pm 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) y Mn ($35,0 \pm 0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ vs. $32,7 \pm 0,3 \text{ mg kg}^{-1}$), afectados posiblemente por el efecto de dilución debido a la mayor producción de 2012/13. Por el contrario, los contenidos fueron menores en 2010/2011 en el caso del K ($0,39 \pm 0,01\%$ vs. $0,43 \pm 0,01\%$) (Tablas XIII, XIV, XV, XVI, XVIII, XIX y XX). Comparando los valores encontrados con los referenciados por otros autores, todos ellos se encuentran en niveles normales (Tabla 4.11).



Tabla 4.11. Contenido de macronutrientes (K, P, S, Mg, Ca) y micronutrientes (Fe, Cu y Mn) presentes en el grano, y su comparativa con los valores encontrados por otros autores.

Elemento	Presente estudio	Otros estudios	Referencia
K (%)	0,38- 0,46	0,27-0,52	Graham <i>et al.</i> , 1999; Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Morgounov, 2007
		0,50-0,84	Alam, 2001
P (%)	0,37 - 0,43	0,27-0,50	Graham <i>et al.</i> , 1999; Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Morgounov, 2007
		0,80-1,33	Alam, 2001
S (%)	0,12 - 0,16	0,11-0,30	Graham <i>et al.</i> , 1999; Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Morgounov, 2007
Mg (mg kg ⁻¹)	0,11 - 0,13	0,08-0,23	Bálint <i>et al.</i> , 2001; Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Morgounov <i>et al.</i> , 2007; Gómez-Becerra <i>et al.</i> , 2010
		0,80-1,39	Graham <i>et al.</i> , 1999; Oury <i>et al.</i> , 2006
Ca (mg kg ⁻¹)	381 - 496	310-556	Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003
		480-1000	Alam, 2001; Bálint <i>et al.</i> , 2001
Fe (mg kg ⁻¹)	28,3-38,0	5-35	Eagling <i>et al.</i> , 2014
		28-51	Zhao <i>et al.</i> , 2009; Tiwari <i>et al.</i> , 2010
Cu (mg kg ⁻¹)	3,0 - 4,0	3,0-4,2	Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003
		5,1-12,1	Bálint <i>et al.</i> , 2001, Gómez-Becerra <i>et al.</i> , 2010; Zhang <i>et al.</i> , 2010; Kumar y Babel, 2011
Mn (mg kg ⁻¹)	28,7 - 37,5	18,8-23,3	Saini y Gupta, 2000
		21,3-50,9	Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Kumar y Babel, 2011
		45,4-102,7	Alam, 2001

4.3.8.1. Potasio (K)

El K es un nutriente esencial para las plantas (Epstein, 1972) y representa el mayor compuesto inorgánico en las células vegetales (Borowitzka, 1981). Está involucrado en los procesos de osmoregulación y crecimiento celular, regulación de los estomas, activación de enzimas, síntesis proteica, fotosíntesis, carga al floema, transporte y captación de nutrientes (Marschner, 1995a; Rascio *et al.*, 2001; Pettigrew, 2008; Niu *et al.*, 2013). En personas y animales, el K es el principal catión de los fluidos intracelulares, regula la presión osmótica intracelular y el balance ácido-base, además de ser requerido para la síntesis de glucógeno y proteínas, así como el desdoblamiento metabólico de la glucosa (Tacon, 1989).

El contenido de K en las parcelas no tratadas con Zn fertilizante fue muy variable, con concentraciones que oscilaron desde $0,36 \pm 0,01$ hasta $0,46 \pm 0,01\%$ en 2010/11, y



desde $0,39 \pm 0,01$ hasta $0,47 \pm 0,01\%$ en 2012/13. Estos resultados están en consonancia con los reportados por Graham *et al.* (1999), Calderini y Ortiz-Monasterio (2003), y Morgounov (2007), pero fueron inferiores a los encontrados por Alam (2001), mostrando la gran variabilidad del germoplasma estudiado (Tabla 4.11 y XIII).

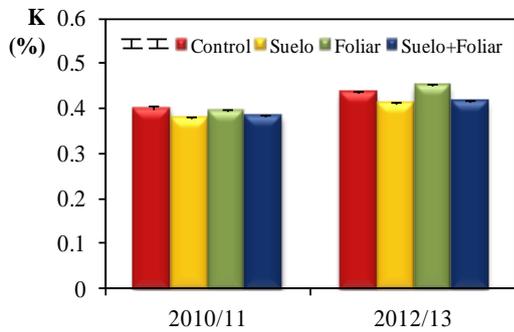


Figura 4.18. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de K en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

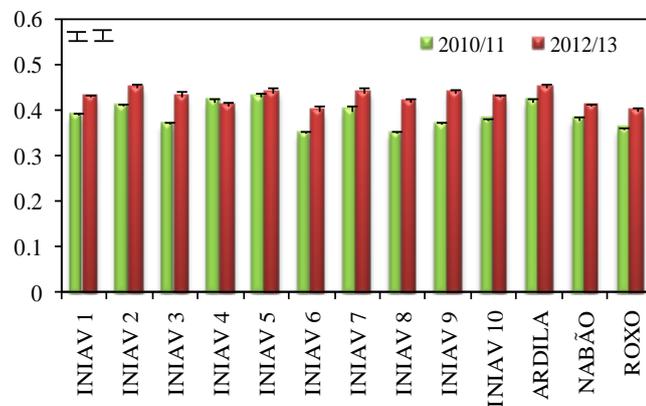


Figura 4.19. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de K en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

La aplicación del Zn fertilizante, tanto aislada al suelo como combinada con la aplicación foliar, produjo una disminución que aunque pequeña, fue significativa en el contenido de K en el grano tanto en cada año estudiado por separado como en el año medio, en el que descendió desde $0,41 \pm 0,01\%$ en el tratamiento control hasta $0,39 \pm 0,01\%$ y $0,40 \pm 0,01\%$, en el tratamiento al suelo aislado y combinado respectivamente. Sin embargo, la aplicación de Zn fertilizante de forma foliar no provocó un descenso significativo respecto al control (Tabla XIII y Figura 4.18). Respecto a la correlación existente entre el contenido de Zn y de K en el grano para cada uno de los tratamientos, todas ellas fueron negativas, aunque solamente fueron significativas en el tratamiento control, foliar y combinado suelo y foliar (Tabla 4.12). Estos resultados están en consonancia con los resultados expuestos por Zhang *et al.* (2010) quienes encontraron una correlación negativa entre el contenido de Zn en el grano y el contenido de K sin la aplicación de Zn fertilizante. Por lo que si la ingesta diaria recomendada (IDR) de K está



establecida entre 1.600 y 3.500 mg kg⁻¹ (FAO/WHO, 2000; White y Broadley, 2005a; García, 2006) la ingesta de estos granos completos (tomando 150 g como consumo medio de pan en España y Portugal) supondría entre un 1,4 y un 3,1% en los tratamientos control y foliar, y entre un 6 y un 7% menos en los tratamientos al suelo y suelo y foliar (Tabla XXI).

Tabla 4.12. Expresión y coeficiente de correlación (R²) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en grano en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52), y el contenido en K en el grano

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
K	y = -191,7x + 105,7 R ² = 0,38*	y = -151,7x+86,3 R ² = 0,28 _{ns}	y = -122,6x + 103,3 R ² = 0,54**	y = -188,5x + 127,4 R ² = 0,55**	y = -102,5x + 80,9 R ² = 0,05 _{ns}

ns, no significativo; *, ** Significación a un 0,05 y 0,01 nivel de probabilidad, respectivamente

En cuanto a los cultivares, fueron INIAV-2, INIAV-5 y Ardila, los cultivares de mayor concentración de K en grano, con una concentración de 0,43%, siendo por el contrario, los cultivares INIAV-6 y Roxo los que peores resultados obtuvieron de media de todos los tratamientos (Tabla XIII y Figura 4.19).

4.3.8.2. Fósforo (P)

El P es un elemento que juega un papel esencial en las plantas, tanto en la síntesis de proteínas, nucleótidos, y enzimas, como en la fotosíntesis y otros metabolismos fisiológicos y bioquímicos (Marschner, 1993), siendo las bajas concentraciones de éste en el suelo uno de los factores que limitan la producción de trigo en el mundo (Ozanne, 1980; Tilman *et al.*, 1982). En personas y animales, el P es un componente esencial de huesos y cartílagos, además de jugar un papel central en el metabolismo celular y energético (Tacon, 1989).

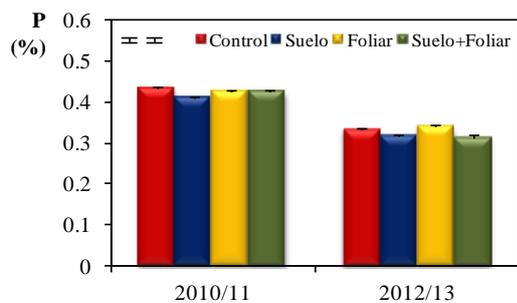


Figura 4.20. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de P en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

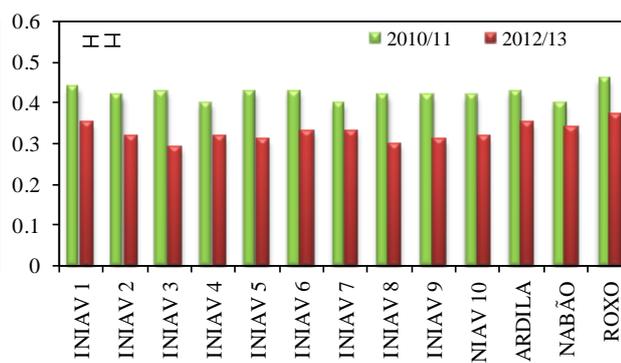


Figura 4.21. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de P en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

El contenido de P en las parcelas no tratadas con Zn fertilizante fue muy variable, con concentraciones que oscilaron entre $0,40 \pm 0,02$ y $0,47 \pm 0,02\%$ en 2010/11, y entre $0,28 \pm 0,01$ y $0,38 \pm 0,01\%$ en 2012/13, valores similares a los conseguidos por Graham *et al.* (1999), Calderini y Ortiz-Monasterio (2003), Morgounov (2007), aunque inferiores a los comunicados por Alam (2001) (Tabla 4.11 y XIV).

La aplicación de Zn fertilizante, en su aplicación al suelo o en combinación con la aplicación foliar, provocó una disminución que aunque pequeña, fue estadísticamente significativa en el contenido de P en el grano, desde $0,38 \pm 0,01\%$ en el tratamiento control hasta $0,36 \pm 0,01\%$ en la aplicación de Zn al suelo, y $0,37 \pm 0,01\%$ en la aplicación combinada suelo y foliar, mientras que la aplicación foliar sólo provocó disminuciones significativas en el contenido de P del grano en 2010/11 (Tabla XIV y Figura 4.20).

Como se observa en la Tabla 4.13, los contenidos de P y Zn presentaron una fuerte correlación positiva ($P \leq 0,01$) bajo todas las formas de aplicación de Zn fertilizante. Estos resultados están en consonancia con los encontrados por otros autores quienes hallaron una correlación positiva del contenido de Zn y P en grano (Garvin *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2009; Gómez-Becerra *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010), de tal forma que al incrementar las concentraciones de Zn en la planta las concentraciones de P también se incrementarán



(Zhao *et al.*, 2009, Gómez-Becerra *et al.*, 2010). Por el contrario, Morgounov *et al.* (2007), en diferentes localizaciones de Asia Central y sin la aplicación de Zn, encontraron una correlación negativa entre ambos elementos. Aproximadamente el 75% del P total en el grano de trigo es almacenado en forma de ácido fítico, principalmente en el germen y en las capas de aleurona (Lott y Spitzer, 1980; Raboy, 2000). Esta pequeña molécula, con una alta densidad de carga, es un potente quelante de elementos minerales con cargas positivas, entre las que se encuentran el Ca, Fe y Zn (Raboy, 2000). Así, la ingesta de fitatos presenta, al mismo tiempo, un efecto negativo y positivo en la salud de las personas puesto que, por un lado contribuye al agotamiento de nutrientes y su deficiencia, pero por el otro posee una función antioxidante y anticancerígena (Cakmak *et al.*, 2002; Welch y Graham, 2004; Morgounov *et al.*, 2007), siendo por tanto, necesaria la ingesta de ciertas cantidades de fitatos. Por lo que si la IDR de P oscila entre 700 mg kg^{-1} (White y Broadley, 2005a) y 800 mg kg^{-1} (FAO/WHO, 2000), la ingesta de 150 g de los granos completos obtenidos en las parcelas no fertilizadas o con aplicación foliar de Zn supondrían entre un 7,3 y un 8,3% de la IDR y entre un 3 y un 5% menos en las tratadas con Zn al suelo o combinado suelo y foliar (Tabla XXI).

Tabla 4.13. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) ($n=13$) y en todos los tratamientos juntos ($n=52$), y el contenido en P en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
P	$y = 170,8x - 39,4$ $R^2 = 0,89^{***}$	$y = 153,8x - 28,9$ $R^2 = 0,90^{***}$	$y = 106,5x + 11,0$ $R^2 = 0,65^{***}$	$y = 107,0x + 12,6$ $R^2 = 0,78^{***}$	$y = 135,9x - 11,6$ $R^2 = 0,24^{***}$

*** Significación a un 0,05 nivel de probabilidad

En la media de todos los tratamientos, el cultivar Roxo fue el que obtuvo las concentraciones mayores de P en el grano, con un valor medio de 0,42% mientras que por el contrario INIAV-3, INIAV-4, INIAV-8 y Nabão, fueron los que obtuvieron las menores concentraciones de P en el grano (Tabla XIV y Figura 4.21).

4.3.8.3. Azufre (S)

El S es uno de los elementos esenciales para el desarrollo de los cultivos al ser fundamental en la transducción de energía, la acción enzimática y ser un componente básico de las vitaminas (Raulin y Toupance, 1977; Clark, 1981; Germida y Janzen, 1993), además de participar en la fotosíntesis, formación de aminoácidos, conformación proteica



(enlaces disulfuro), almacenamiento de energía, enzimas del grupo prostético (proteínas Fe-S) y bioquímicos únicos (CoA, CoM, glutatión, biotina, tiamina, tiocinato, penicilina, vasopresina, insulina) (Clark, 1981). En personas y animales, el S es un componente esencial de varios aminoácidos clave (metionina y cistina), vitaminas (tiamina y biotina) y la hormona insulina (Tacon, 1989).

El contenido de S en las parcelas control varió desde $0,14 \pm 0,01$ hasta $0,18 \pm 0,01\%$ en 2010/11, y desde $0,10 \pm 0,01$ hasta $0,14 \pm 0,01\%$ en 2012/13 (Tabla XV). Estos resultados están en consonancia con los reportados por Graham *et al.* (1999), Calderini y Ortiz-Monasterio (2003) y Morgounov (2007) (Tabla 4.11).

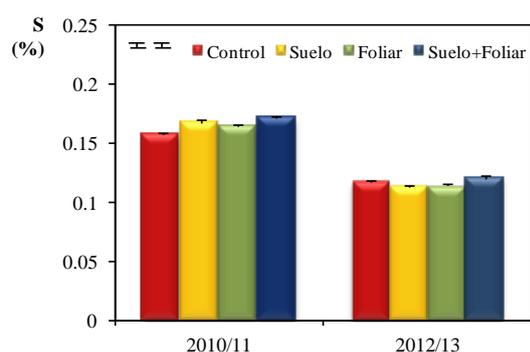


Figura 4.22. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de S en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

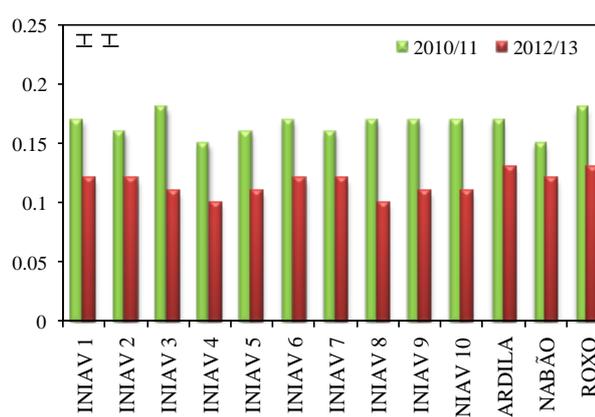


Figura 4.23. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de S en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

Sólo la aplicación combinada suelo y foliar provocó un incremento en el contenido de S en el grano que, aunque significativo, fue muy pequeño, desde $0,14 \pm 0,01\%$ en el tratamiento control hasta $0,15 \pm 0,01\%$ (Tabla XV y Figura 4.22). Como se observa en las correlaciones entre los contenidos de S y Zn, éstos presentaron una fuerte correlación positiva ($P \leq 0,001$) en todas las formas de aplicación de Zn (Tabla 4.14), al igual que en diversos estudios realizados por McDonald y Mousavvi Nik (2009) y Gómez-Becerra *et al.* (2010), quienes observaron como al incrementar los niveles de Zn la acumulación de S en el grano se vio favorecida. Esto se debe a la gran habilidad del Zn a unirse mediante



enlaces sulfhidrilo e interactuar con aminoácidos que contienen S tales como la metionina (House *et al.*, 1996, Cakmak, 2000), que es un importante precursor de la biosíntesis de nicotianamina, necesaria en la síntesis de fitosideróforos en los cereales (que extraen el Zn de los compuestos del suelo) y en el transporte de Zn al interior de las semillas (Takahashi *et al.*, 2003, Cakmak *et al.*, 2010a, Gómez-Becerra *et al.*, 2010).

Tabla 4.14. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52), y el contenido en S en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
S	$y = 0,01x + 0,1$	$y = 0,003 x + 0,1$	$y = 0,004 x - 0,1$	$y = 0,004 x - 0,03$	$y = 293,4x - 2,2$
	$R^2 = 0,77^{***}$	$R^2 = 0,90^{***}$	$R^2 = 0,75^{***}$	$R^2 = 0,90^{***}$	$R^2 = 0,27^{***}$

*** Significación a un 0,05 nivel de probabilidad

En la media de todos los tratamientos, el cultivar Roxo obtuvo los mejores resultados, con un valor de $0,16 \pm 0,01\%$ mientras que, por el contrario, el cultivar INIAV-4 obtuvo los peores resultados (Tabla XV y Figura 4.23).

4.3.8.4. Magnesio (Mg)

Es importante estudiar la concentración de Mg en los cultivos y en la alimentación debido al papel fundamental que éste presenta en la calidad y en la nutrición humana (Broadley y White, 2010). En las plantas participa en diversas funciones fisiológicas como en la carga y transporte de fotoasimilados al interior de las raíces, tallos y granos (Cakmak *et al.* 1994a; Hermans *et al.*, 2005), además de tener un impacto positivo en la fotosíntesis, en la activación enzimática, y en la formación y utilización de ATP (Cakmak, 2013). En las personas tienen un papel protector contra desórdenes cardiovasculares, ataques al corazón y diabetes (Bo y Pisu, 2008), es un cofactor en numerosas enzimas necesarias para el metabolismo energético, síntesis proteica, síntesis de ADN y ARN, el mantenimiento del potencial eléctrico de los tejidos nerviosos y de las membranas celulares (WHO y FAO, 2004). Además, tiene un papel importante en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos (Tacon, 1989), regulación del flujo de K y su función en el metabolismo del Ca (Classen, 1984; Waterlow, 1992; Al-Ghamdi *et al.* 1994).



El contenido de Mg de los cultivares en las parcelas no fertilizadas con Zn varió desde $0,12 \pm 0,01$ hasta $0,15 \pm 0,01\%$ en 2010/11, y desde $0,09 \pm 0,01$ a $0,12 \pm 0,01\%$ en 2012/13 (Tabla XVI), estando en consonancia con los estudios efectuados por Bálint *et al.* (2001), Calderini y Ortiz-Monasterio (2003), Morgounov *et al.* (2007) y Gómez-Becerra *et al.* (2010), pero inferiores a los reportados por Graham *et al.* (1999) y Oury *et al.* (2006) (Tablas 4.11 y XVI).

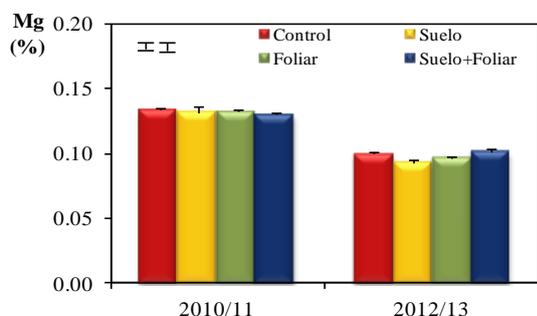


Figura 4.24. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Mg en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

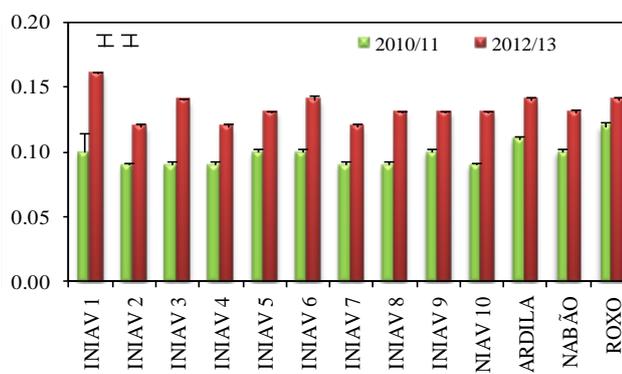


Figura 4.25. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Mg en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

La aplicación de Zn al suelo provocó una disminución significativa en el contenido de Mg en el grano en el año medio, desde $0,12 \pm 0,01\%$ en el tratamiento control hasta $0,11 \pm 0,01\%$, no apreciándose diferencias ocasionadas por el resto de aplicaciones (Tabla XVI y Figura 4.24). Como se observa en la Tabla 4.15 las correlaciones entre los contenidos de Mg y Zn en el grano estuvieron fuertemente correlacionadas ($P \leq 0,001$) de forma positiva bajo todas las formas de aplicación de Zn fertilizante. Estos resultados están en consonancia con los reportados por Zhang *et al.* (2010) quienes hallaron dicha correlación en un estudio efectuado sin la aplicación de Zn fertilizante, pero en contra con los resultados de Morgounov *et al.* (2007) quienes no encontraron correlación entre ellos.



Tabla 4.15. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52), y el contenido en Mg en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
Mg	$y = 0,002 x + 0,07$	$y = 0,002 x + 0,05$	$y = 0,003 x - 0,03$	$y = 0,02 x + 0,003$	$y = 392,3x - 5,5$
	$R^2 = 0,83^{***}$	$R^2 = 0,86^{***}$	$R^2 = 0,75^{***}$	$R^2 = 0,83^{***}$	$R^2 = 0,25^{***}$

*** Significación a un 0,05 nivel de probabilidad

En la media de todos los tratamientos los cultivares INIAV-1, Ardila y Roxo presentaron las mayores concentraciones de Mg en el grano, con concentraciones de $0,13 \pm 0,01\%$ mientras que, por el contrario, el cultivar INIAV-4 fue el que menor concentración presentó de este elemento (Tabla XVI y Figura 4.25).

Teniendo en cuenta que la ingesta diaria recomendada para este nutriente se encuentra entre 280 y 420 mg kg^{-1} (FAO/WHO, 2000; White y Broadley, 2005a; García, 2006), la aplicación de Zn fertilizante no provocaría un efecto negativo sobre la IDR de este nutriente, a excepción de la aplicación al suelo que la disminuiría en una pequeña proporción (Tabla XXI).

4.3.8.5. Calcio (Ca)

El Ca es un elemento esencial requerido por las plantas para funciones estructurales en las paredes y membranas celulares, y como mensajero intracelular en el citosol (Marschner, 1995a; White y Broadley, 2003). En personas, cuya IDR se encuentra entre 800 mg kg^{-1} (FAO/WHO, 2000; García, 2006) y 1200 mg kg^{-1} (White y Broadley, 2005a), el Ca es un componente esencial de los huesos, siendo necesario en la prevención de las enfermedades de éstos (WHO y FAO, 2004). Además, es imprescindible para la coagulación normal de la sangre, es un activador de varias enzimas clave, juega un papel fundamental en la regulación de la permeabilidad de las membranas celulares y, consecuentemente, sobre la captación de nutrientes (Tacon, 1989).



Las concentraciones de Ca en el grano en las parcelas no tratadas con Zn fertilizante fueron muy variables con contenidos que oscilaron entre 354 ± 14 y 510 ± 24 mg kg⁻¹ en 2010/11, y entre 387 ± 17 y 481 ± 23 mg kg⁻¹ en 2012/13, valores que están en consonancia con los proporcionados por diversos autores como Calderini y Ortiz-Monasterio (2003), pero inferiores a los de Alam (2001) y Bálint *et al.* (2001) (Tablas 4.11 y XVII).

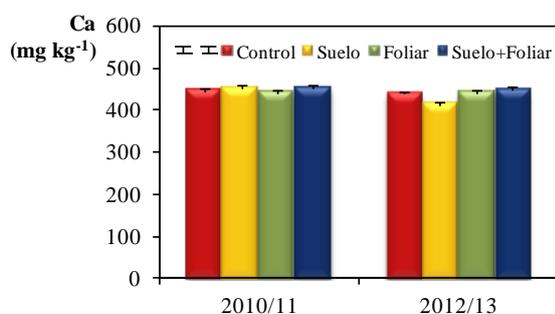


Figura 4.26. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Ca en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

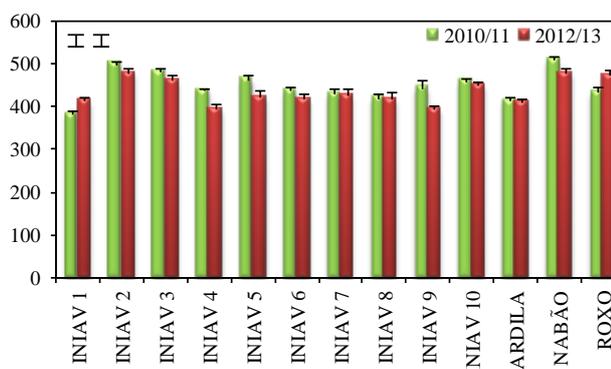


Figura 4.27. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Ca en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

La aplicación de Zn fertilizante al suelo provocó una disminución del contenido de Ca en el grano en el año medio desde 442 ± 5 mg kg⁻¹ en el tratamiento control hasta 432 ± 6 mg kg⁻¹ por la aplicación de Zn al suelo, probablemente debido al efecto de dilución provocado por la mayor producción que provocó este tipo de aplicación, no encontrándose diferencias significativas por el resto de aplicaciones (Tabla XVII y Figura 4.26). Como se observa en la Tabla 4.16 los contenidos de Ca y Zn en el grano no estuvieron correlacionados significativamente bajo ninguna forma de aplicación de éste fertilizante, estando dichos resultados en consonancia con los reportados por Zhang *et al.* (2010), aunque Gómez-Becerra *et al.* (2010) si encontraron una débil correlación negativa entre ambos en un estudio efectuado sin la aplicación de Zn fertilizante.



Tabla 4.16. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) ($n=13$) y en todos los tratamientos juntos ($n=52$), y el contenido en Ca en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
Ca	$y = -0,01x + 28,5$ $R^2 = 3 \times 10^{-4}ns$	$y = 0,11x - 18,9$ $R^2 = 0,25ns$	$y = 0,1x + 436,1$ $R^2 = 3 \times 10^{-4}ns$	$y = 0,03x + 447,4$ $R^2 = 3 \times 10^{-5}ns$	$y = 0,06x + 11,1$ $R^2 = 0,03ns$

ns, no significativo.

En la media de todos los tratamientos los cultivares INIAV-2 y Nabão fueron los que presentaron, de media en ambos años, las mayores concentraciones de Ca, con contenidos superiores a 490 mg kg^{-1} , por lo que el consumo de 115 g de estos granos completos supondrían un consumo de $56,3 \text{ mg}$ de Ca, es decir, entre un 5 y 7% de la IDR, mientras que el cultivar INIAV-1, con $399 \pm 6 \text{ mg kg}^{-1}$, fue el que peores resultados obtuvo (Tablas XVII y XXI, y Figura 4.27).

4.3.8.6. Hierro (Fe)

El Fe es uno de los principales nutrientes para las plantas, siendo absorbido en forma de Fe^{2+} o Fe^{3+} , y estando involucrado en la fotosíntesis, en la respiración mitocondrial, en la asimilación del N, en la biosíntesis hormonales (etileno, ácido giberélico, ácido jasmónico), producción y barrido de especies reactivas oxigénicas, osmoprotección y defensa patógena, encontrándose más del 80% del Fe celular en los cloroplastos (Hänsch y Mendel, 2009). En personas y animales, es esencial para el transporte de electrones y oxígeno (Tacon, 1989) y es parte integrada de sistemas enzimáticos importantes en varios tejidos (Brock *et al.*, 1994; Mascotti *et al.* 1995; Kühn, 1996; WHO y FAO, 2004).

Las concentraciones de Fe en el grano, en las parcelas que no recibieron Zn fertilizante, fue muy variable, con contenidos que oscilaron desde $27,7 \pm 1,5$ hasta $35,3 \pm 1,1 \text{ mg kg}^{-1}$ en 2010/11, y desde $28,3 \pm 1,9$ hasta $38,0 \pm 2,4 \text{ mg kg}^{-1}$ en 2012/13 (Tabla XVIII), estando en consonancia con los resultados expuestos por Eagling *et al.* (2014), pero inferiores a los comunicados por Zhao *et al.* (2009) y Tiwari *et al.* (2010) (Tabla 4.11).

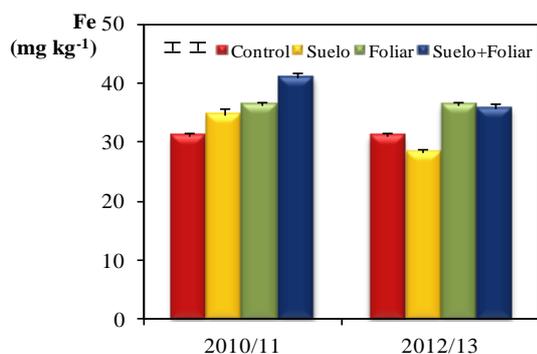


Figura 4.28. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Fe en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

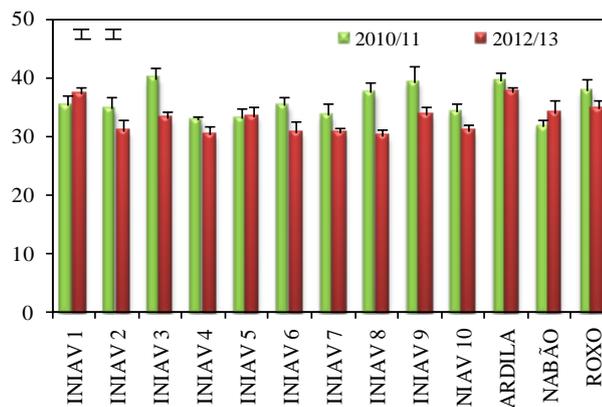


Figura 4.29. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Fe en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

La aplicación foliar de Zn fertilizante, aislada o en combinación con la aplicación al suelo, fueron las aplicaciones que provocaron un incremento significativo en el contenido de Fe en el grano, desde $31,0 \pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ en el tratamiento control hasta $36,3 \pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ por la aplicación foliar, y hasta $38,4 \pm 0,7 \text{ mg kg}^{-1}$ por la aplicación combinada suelo y foliar en el año medio (Tabla XVIII y Figura 4.28). Con respecto a la correlación entre los contenidos de Fe y Zn en el grano, todas las aplicaciones de Zn presentaron una correlación positiva, aunque ésta sólo fue significativa en la aplicación aislada al suelo o combinada suelo y foliar con Zn fertilizante (Tabla 4.17), al igual que Cakmak *et al.* (2004), Garvin *et al.* (2006), Morgounov *et al.* (2007), McDonald y Mousavvi Nik (2009), Zhao *et al.* (2009) y Gómez-Becerra *et al.* (2010), mientras que Wang *et al.* (2012) no la encontraron. Esta correlación positiva entre ambos elementos es debida a la alta capacidad que tienen, tanto el Fe como el Zn, a unirse mediante enlaces sulfhidrilo e interactuar con aminoácidos que contienen S, como es la metionina (House *et al.*, 1996; Cakmak, 2000). La metionina es un importante precursor de la biosíntesis de nicotianamina, involucrada en la síntesis de fitosideróforos en los cereales, y que movilizan tanto el Fe como el Zn del suelo, transportándolos al floema y al interior de las flores y semillas (Takahashi *et al.*, 2003; Cakmak *et al.*, 2010a). Además, la correlación positiva entre el Fe y Zn sugiere que los genes que regulan sus concentraciones son cosegregantes (Dwivedi *et al.*, 2012), lo que



hará que puedan ser explotados a la vez para seleccionar líneas con altas concentraciones de ambos minerales en los programas de mejora (Welch y Graham, 2004). Por tanto, existe un fuerte componente genético en la acumulación de éstos en el grano, aunque también una alta interacción genotipo x ambiente (Welch y Graham, 2004).

Tabla 4.17. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52), y el contenido en Fe en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
Fe	$y = 0,2x + 19,3$ $R^2 = 3*10^{-3}ns$	$y = 1,3x - 15,0$ $R^2 = 0,61***$	$y = 1,29x + 4,82$ $R^2 = 0,27ns$	$y = 1,49x - 5,0$ $R^2 = 0,76***$	$y = 2,37x - 42,1$ $R^2 = 0,58***$

ns, no significativo; *** Significación a un 0,001 nivel de probabilidad.

Los cultivares que mayores concentraciones de Fe obtuvieron en la media de todos los tratamientos, fueron INIAV-3, INIAV-9 y Ardila, con contenidos superiores a 36 mg kg⁻¹ mientras que, por el contrario, el cultivar INIAV-4, con 31,5 mg kg⁻¹, fue el que menor concentración de Fe presentó (Tabla XVIII y Figura 4.29). Como la IDR de Fe para las personas es de media 10 mg kg⁻¹ (FAO/WHO, 2000; White y Broadley, 2005a; García, 2006), la ingesta de 115 g de estos granos completos variaría entre un 36% de la IDR en INIAV-4 hasta más de un 41% de la IDR en los mejores cultivares (Tabla XXI)

4.3.8.7. Cobre (Cu)

El Cu es un elemento esencial para la vida, siendo requerido en pequeñas cantidades por las plantas, animales y personas. En las plantas es absorbido en forma de Cu²⁺ siendo esencial para la fotosíntesis y la respiración mitocondrial, para el metabolismo del C y del N, para la protección contra el estrés oxidativo y para la síntesis de paredes celulares (Hänsch y Mendel, 2009). En personas y animales, el Cu juega un papel fundamental en el metabolismo de las proteínas y carbohidratos, en los sistemas enzimáticos de oxidación-reducción (Boorboori *et al.*, 2012), en la formación de melanina y por ende en la pigmentación de la piel, así como para la formación de huesos y tejidos conectivos (Tacon, 1989; De Luís *et al.*, 2012).



El contenido de Cu en el grano es muy variable, mostrando la diversidad genética existente para este elemento (Gómez-Becerra *et al.*, 2010). Así, en el tratamiento control el contenido osciló desde $3,0 \pm 0,1$ hasta $4,3 \pm 0,4$ mg kg^{-1} en 2010/11, y desde 2,7 hasta $4,0$ mg kg^{-1} en 2012/13 (Tabla XIX). Estos resultados estuvieron en consonancia con los reportados por Calderini y Ortiz-Monasterio (2003), pero fueron inferiores a los de Bálint *et al.* (2001), Gómez-Becerra *et al.* (2010), Zhang *et al.* (2010) y Kumar y Babel (2011) (Tabla 4.11).

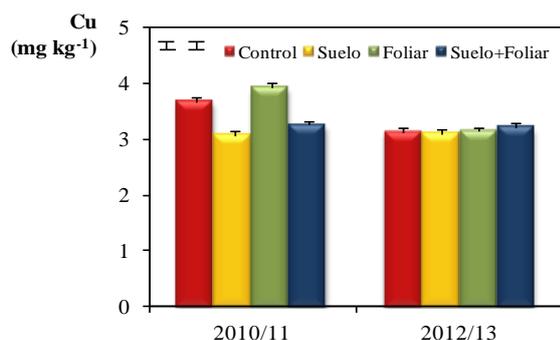


Figura 4.30. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Cu en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

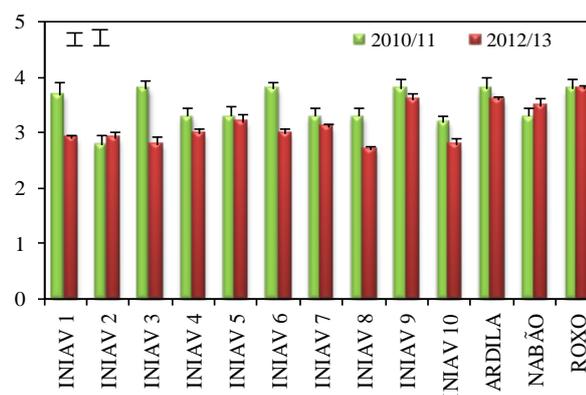


Figura 4.31. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Cu en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

Las aplicaciones de Zn fertilizante tuvieron un efecto significativo en el contenido de Cu en el grano de trigo harinero. En este sentido las aplicaciones al suelo, ya sea aislada o en combinación con la aplicación foliar, provocaron una disminución significativa en el contenido de Cu en el grano en el año medio respecto al tratamiento control, desde $3,1 \pm 0,1$ mg kg^{-1} en la aplicación al suelo y $3,2 \pm 0,1$ mg kg^{-1} en la aplicación suelo y foliar, en comparación con $3,4 \pm 0,1$ mg kg^{-1} en el tratamiento control. La aplicación foliar fue significativamente la que mayores contenidos de Cu produjeron en el grano, con $3,5 \pm 0,1$ mg kg^{-1} . El Cu es un elemento electropositivo y fuertemente ligado a los sitios de intercambio del Zn, originando una fuerte inhibición competitiva que afectará a la redistribución de Zn en el interior de la planta (Pendias y Pendias, 1992; Alloway, 2008;



Arshad *et al.*, 2011), limitando las concentraciones de Cu disponible presentes en el suelo así como su coeficiente de difusión (Shuman, 1998; Whiting *et al.*, 2003; Broadley *et al.*, 2007; Cakmak, 2008b). Así, cuando la fertilización con Zn se realiza de forma foliar no existe dicha inhibición competitiva, provocando un incremento significativo en el contenido de Cu en el grano (Tabla XIX y Figura 4.30). Con respecto a las correlaciones entre el contenido de Zn y Cu en el grano, éste se correlacionó de forma positiva y significativa solamente en los tratamientos control y foliar, así como en el estudio de todos los tratamientos (Tabla 4.18). Al igual que en el presente estudio, diversos autores como McGrath (1985) o Gómez-Becerra *et al.* (2010) encontraron dicha correlación positiva entre ambos nutrientes, mientras que Sharma y Bapat (2000) no encontraron correlación entre ellos.

Tabla 4.18. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) (n=13) y en todos los tratamientos juntos (n=52) y el contenido en Cu en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
Cu	$y = 15,6x - 26,7$ $R^2 = 0,53^{**}$	$y = 5,7x + 9,4$ $R^2 = 0,06^{ns}$	$y = 9,2x + 19,1$ $R^2 = 0,59^{**}$	$y = 6,68x + 30,6$ $R^2 = 0,14^{ns}$	$y = 12,4x - 1,8$ $R^2 = 0,16^{**}$

ns, no significativo; **** Significación a un 0,01 nivel de probabilidad.

Al igual que en el tratamiento control, los cultivares INIAV-9, Ardila y Roxo, fueron los cultivares que mayores contenidos de Cu en grano acumularon en la media de todos los tratamientos, con contenidos iguales o superiores a $3,7 \text{ mg kg}^{-1}$ mientras que, por el contrario, el cultivar INIAV-2 con contenidos de Cu de $2,8 \text{ mg kg}^{-1}$, fue el que obtuvo peores resultados (Tabla XIX y Figura 4.31), pudiendo traducirse en aumentos en la IDR, establecida entre 2 y 3 mg kg^{-1} , desde un 16,7% hasta un 25% de la IDR por la ingesta de 150 g de granos completos del peor y de los mejores cultivares respectivamente (Tabla XXI).



4.3.8.8. Manganeso (Mn)

El Mn es un elemento esencial para el metabolismo y desarrollo de las plantas, siendo absorbido en forma de Mn^{2+} (Hebbern *et al.* 2009; Hänsch y Mendel, 2009). Es un activador catalítico de numerosas proteínas (Barber, 2003) y ejerce un papel activador sobre numerosas enzimas (Hänsch y Mendel, 2009). En personas y animales, el Mn funciona como un activador en las enzimas que intervienen en la transferencia de los fosfatos (Tacon, 1989). Al ser un cofactor o componente de varios sistemas enzimáticos claves, el Mn es esencial en la formación de huesos, regeneración de células sanguíneas, en el metabolismo de carbohidratos y en el ciclo reproductivo (Tacon, 1989).

El contenido de Mn en los cultivares no fertilizados con Zn fue muy variable, con contenidos desde $29,0 \pm 1,2$ hasta $39,7 \pm 5,3$ $mg\ kg^{-1}$ en 2010/11, y desde $27,0 \pm 1,3$ hasta $37,7 \pm 3,3$ $mg\ kg^{-1}$ en 2012/13 (Tabla XX). Estas concentraciones estuvieron en consonancia con las expuestas por Calderini y Ortiz-Monasterio (2003), y Kumar y Babel (2011), pero fueron superiores a las reportadas por Saini y Gupta (2000) en suelos arcillosos, e inferiores a las encontradas por Alam (2001) (Tabla 4.11).

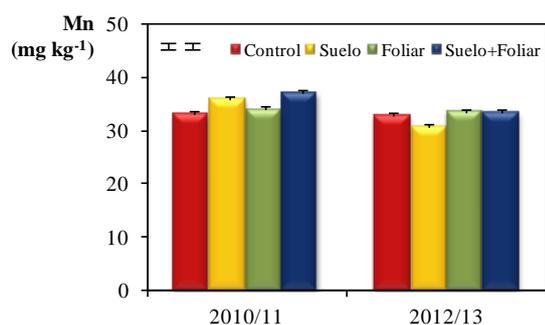


Figura 4.32. Efecto del Zn fertilizante sobre el contenido de Mn en grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.

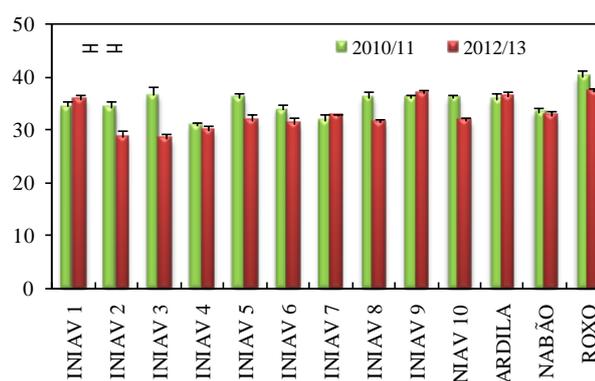


Figura 4.33. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Mn en el grano en los años agrícolas 2010/2011 y 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. Las barras verticales a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares: la de la izquierda al mismo nivel de año, y la de la derecha a diferente nivel de año.



La aplicación combinada de Zn fertilizante suelo y foliar provocó un incremento significativo en el contenido de Mn en el grano en el año medio, desde $33,0 \pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ en el tratamiento control hasta $35,3 \pm 0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ en la aplicación combinada, mientras que el resto de formas de aplicación no provocaron incrementos significativos (Tabla XX y Figura 4.32). Con respecto a las correlaciones del contenido de Zn y Mn en el grano, estos elementos estuvieron fuertemente correlacionados ($P \leq 0,001$) de forma positiva bajo las aplicaciones de Zn fertilizante al suelo, tanto aislada como combinada con la aplicación foliar, mientras que no se encontraron diferencias significativas con el resto de tratamientos (Tabla 4.19). Estos resultados están en contra con los estudios de Sharma y Bapat (2000) quienes no encontraron dicha correlación tras la aplicación de fertilizante Zn al suelo, mientras que otros autores encontraron, o bien una débil correlación positiva (Gómez-Becerra *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010) o por el contrario, una fuerte correlación negativa cuando no se aplicó Zn fertilizante (Morgounov *et al.*, 2007).

Tabla 4.19. Expresión y coeficiente de correlación (R^2) obtenido mediante el test de correlación de Pearson entre el contenido en Zn total en cada aplicación (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar) ($n=13$) y en todos los tratamientos juntos ($n=52$) y el contenido en Mn en el grano.

	Control	Suelo	Foliar	Suelo + Foliar	Todos
Mn	$y = 0,4x + 12,6$ $R^2 = 0,01_{ns}$	$y = 1,6x - 27,9$ $R^2 = 0,62^{***}$	$y = 0,5x + 34,7$ $R^2 = 0,10_{ns}$	$y = 1,7x - 8,0$ $R^2 = 0,63^{***}$	$y = 1,5x - 11,5$ $R^2 = 0,14^{**}$

ns, no significativo; **, *** Significación a un 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente.

En la media de todos los tratamientos, el cultivar Roxo, con $38,7 \text{ mg kg}^{-1}$, obtuvo las mayores concentraciones de Mn, e INIAV-4, con $30,4 \text{ mg kg}^{-1}$, fue el que obtuvo los contenidos más bajos (Tabla XX y Figura 4.33). La IDR de Mn oscila entre 2 y 5 mg kg^{-1} (FAO/WHO, 2000; White y Broadley, 2005a; García, 2006), por lo que la ingesta de 115 g de estos granos completos supondría entre un 77 y un 207% de la IDR según el tratamiento y el nivel de IDR referido (Tabla XXI).



4.4. Resultados y discusión del Objetivo II



En este objetivo, en el que sólo intervino el año agrícola 2012/13, se evaluó el potencial de seis cultivares, de los cuales cuatro eran líneas avanzadas del programa de mejora genética de INIAV-Portugal, y dos variedades comerciales, seleccionados a partir de los resultados obtenidos en el año 2010/11. Concretamente se seleccionó un cultivar con alto y otro con bajo rendimiento en grano (INIAV-1 e INIAV-7, respectivamente); un cultivar con alto y otro con bajo contenido en Zn (INIAV-9 e INIAV-4, respectivamente) y una variedad comercial con alto y otra con bajo contenido en Zn (Roxo y Nabão, respectivamente), estudiando el efecto de la sustitución de la aplicación de Zn en grano lechoso por la aplicación de 4 kg ha⁻¹ de N aplicado como urea (46%) junto con la aplicación de Zn en el momento de la antesis, y su efecto sobre el rendimiento, peso de mil granos, peso hectolitro, contenido en proteína, SDS y cenizas, así como sobre el contenido de Zn total y Zn acumulado por hectárea.

4.4.1. El Zinc en el grano

El análisis de la varianza (ANOVA) muestra el efecto altamente significativo ($P \leq 0,001$) de las variables tratamiento de Zn y N, y cultivar sobre el contenido en Zn en el grano así como sobre la acumulación de Zn por hectárea. Sin embargo, la interacción entre ellos no fue significativa (Tabla 4.20).

Tabla 4.20. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) del contenido de Zn en grano y del Zn acumulado por hectárea, en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Zn total	Acumulación Zn ha ⁻¹
Tratamiento Zn+N	4	212,4***	243,6***
Cultivar	5	6,8***	5,1***
Tratamiento Zn+N x Cultivar	20	0,9 <i>ns</i>	1,4 <i>ns</i>

ns: No significativo; ***Significación a un 0,001 nivel de probabilidad.

El contenido de Zn en el grano y Zn acumulado por hectárea en las parcelas control varió desde 14 ± 2 hasta 20 ± 2 mg Zn kg⁻¹, y desde 44 ± 5 hasta 66 ± 4 g ha⁻¹, con unos valores medios de 17 ± 1 mg kg⁻¹ y 57 ± 6 g ha⁻¹ respectivamente, siendo el cultivar Roxo el que mayor cantidad obtiene tanto en Zn total en grano como en Zn acumulado por hectárea (Tablas XXII y XXIII). Estas concentraciones de Zn en el grano estuvieron en consonancia con las encontradas en otras áreas no fertilizadas con Zn de España (Díaz-Alarcón *et al.*, 1996; Terrés *et al.*, 2001) y Portugal (Galinha *et al.*, 2013), aunque



inferiores a los comunicados por algunos autores en diversas partes del mundo, estableciendo un contenido de Zn total entre 20 y 35 mg kg⁻¹ (Rengel *et al.*, 1999; Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003; Cakmak *et al.*, 2004). Este rango de concentraciones de entre 14 y 20 mg Zn kg⁻¹ muestra la variabilidad genética existente entre los cultivares estudiados para la acumulación de zinc en el grano, pilar fundamental para desarrollar un programa de mejora exitoso. Sin embargo, el nivel objetivo de 45 mg Zn kg⁻¹ establecido por Pfeiffer y McClafferty (2007) como apropiado para los granos de trigo, está muy lejos, ratificando la necesidad de combinar la biofortificación genética con la biofortificación agronómica.

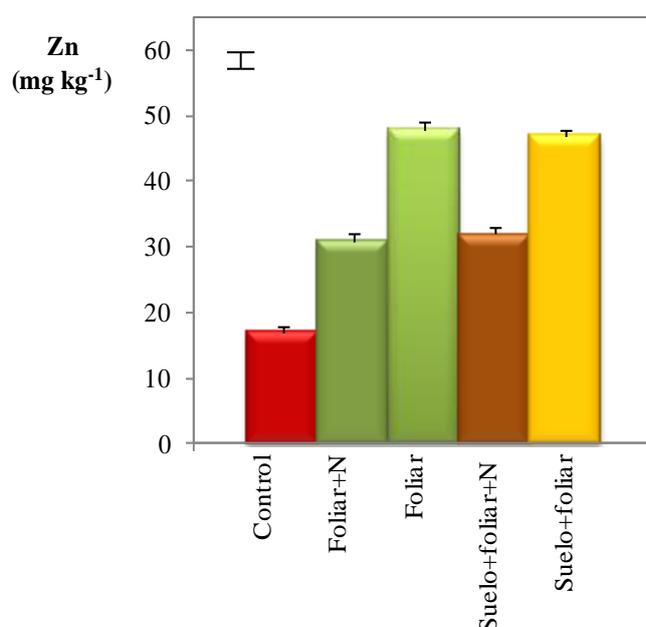


Figura 4.34. Efecto del Zn y N fertilizante sobre el contenido de Zn en grano en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos.

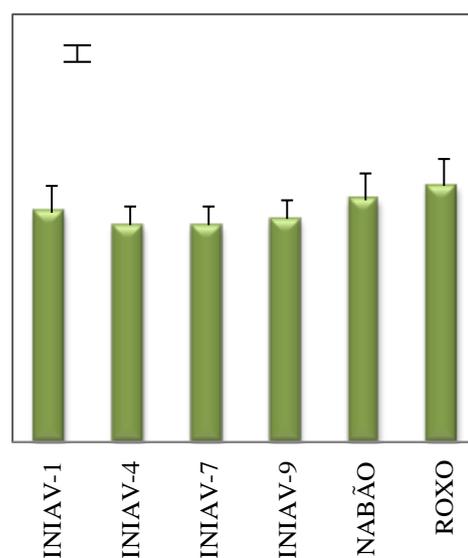


Figura 4.35. Efecto de los cultivares estudiados sobre el contenido de Zn en el grano en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares.

Con respecto a las diferentes formas de aplicación de Zn y N, las concentraciones de Zn en el grano aumentaron desde 17 ± 1 mg Zn kg⁻¹ en las parcelas no fertilizadas a 31 ± 1 mg Zn kg⁻¹ en la aplicación foliar+N, y hasta 32 ± 1 mg Zn kg⁻¹ en la aplicación combinada suelo y foliar con N, es decir, presentaron un incremento del 82 y 88% respectivamente y superior a los 10 mg kg⁻¹ establecidos por Graham *et al.* (2007) y



Cakmak *et al.* (2010a) para provocar impactos notables sobre la salud humana, pero quedando lejos de los 45 mg Zn kg⁻¹ establecidos por Pfeiffer y McClafferty (2007) como adecuados en el grano de trigo para la alimentación de las personas. La aplicación foliar de dos dosis de Zn provocó incrementos mayores, alcanzando los 48 mg Zn kg⁻¹ por la aplicación foliar, y 47 mg Zn kg⁻¹ por la aplicación combinada suelo y foliar presentado, por consiguiente, incrementos de aproximadamente el 180% (Tabla XXII y Figura 4.34). Así, aunque diversos autores habían establecido que la aplicación de N provoca un retraso significativo en la senescencia, manteniendo las plantas verdes durante más tiempo y teniendo, por tanto, periodos de llenado más largos (Kutman *et al.*, 2011b), cuando se efectuaron las dos aplicaciones de Zn, las concentraciones fueron aún mayores. Dichos incrementos fueron inferiores a los obtenidos por otros autores, quienes establecieron unos valores entre el 68% (Zhang *et al.*, 2010) y el 83,5% (Zou *et al.*, 2012). Por tanto, la sustitución de una aplicación de Zn foliar en la fase de llenado del grano por una aplicación de urea foliar en la fase de antesis, y en contraste con la hipótesis inicial basada en diversos estudios (Shi *et al.*, 2010; Kutman *et al.*, 2011b, Gooding *et al.*, 2012; Xue *et al.*, 2012 y 2014), no fue suficiente para alcanzar el contenido de 45 mg kg⁻¹.

El contenido total de Zn en el grano varió entre los diferentes cultivares, siendo las variedades comerciales Nabão y Roxo las que obtuvieron mayores contenidos de Zn en el grano, ambas con más de 35 mg kg⁻¹, destacando además INIAV-1 en los tratamientos con dos aplicaciones foliares de Zn. Por el contrario, los cultivares INIAV-4 e INIAV-7 fueron los que acumularon menores cantidades de Zn en el grano bajo todas las formas de aplicación de Zn fertilizante por lo que, desde el punto de vista de un programa de biofortificación, deberían ser descartados (Tabla XXII y Figura 4.35). Por tanto y como era de esperar, fue la combinación de biofortificación genética con la aplicación de fertilizantes que contienen Zn, la estrategia más eficaz y eficiente para incrementar el contenido de Zn en los granos, resultados que están de acuerdo con Cakmak *et al.* (2010a), Zhang *et al.* (2010 y 2012) y Zou *et al.* (2012).

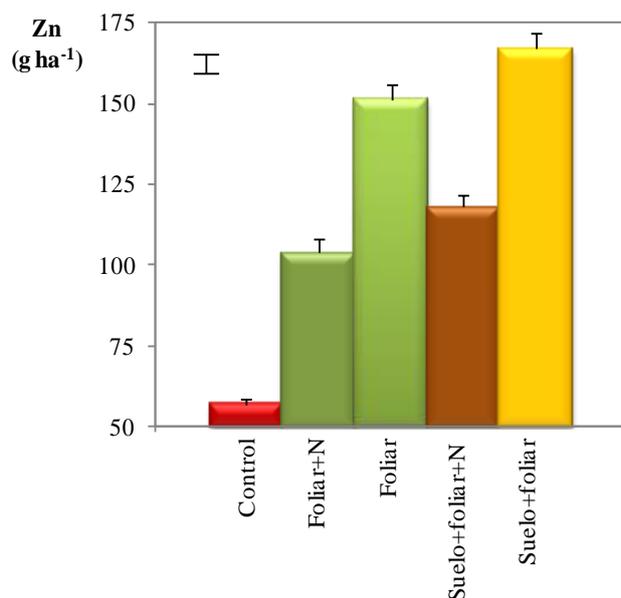


Figura 4.36. Efecto del Zn y N fertilizante sobre la acumulación de Zn por hectárea en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos.

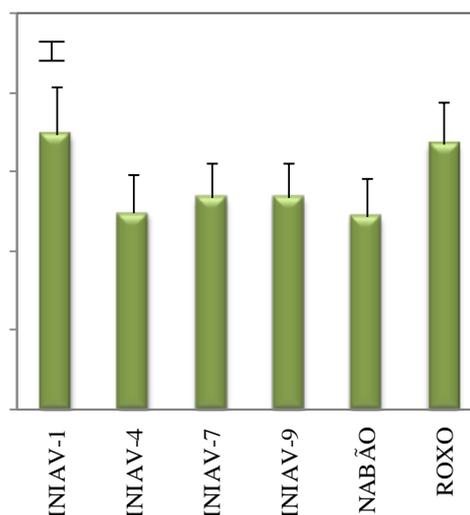


Figura 4.37. Efecto de los cultivares estudiados sobre la acumulación de Zn por hectárea en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares.

En cuanto al Zn acumulado por hectárea, las aplicaciones de Zn con N incrementaron desde $57 \pm 2 \text{ g ha}^{-1}$ hasta $104 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ por la aplicación foliar+N, y hasta $118 \pm 4 \text{ g ha}^{-1}$ por la aplicación combinada suelo y foliar+N, es decir, se produjo un incremento del 82 y 107% respectivamente. Sin embargo, cuando se efectuaron las dos aplicaciones con Zn, al igual que en el contenido de Zn en el grano, se produjeron incrementos superiores al 40% con respecto a la misma forma de aplicación de Zn con urea, alcanzando $151 \pm 5 \text{ g ha}^{-1}$ por la aplicación foliar y hasta $167 \pm 5 \text{ g ha}^{-1}$ por la aplicación combinada suelo y foliar, es decir, incrementos del 165 y 193% respectivamente (Tabla XXIII), estando en consonancia con los incrementos obtenidos por Xue *et al.* (2012). Los cultivares INIAV-1 y Roxo fueron los que mayores acumulaciones de Zn por hectárea obtuvieron, por lo que deberán ser considerados en futuros programas de mejora (Tabla XXIII y Figura 4.37).

Si extrapolamos los resultados al consumidor final, estableciendo que el consumo medio de pan de trigo en España y Portugal se sitúa de media en 150 g (FEN, 2007; FAO, 2011b; INE, 2014), y elaborado con 115g de harina de estos granos, la cantidad de Zn



consumida variará entre los cultivares y tratamientos de Zn aplicados a estos trigos. Así, y considerando la ingesta de pan integral elaborado con harina de grano completo que no han sido tratadas con Zn, se alcanzaría un 13,2% de la IDR de Zn establecida en 15 mg kg^{-1} por Varela (1994) y el NRC (2001), mientras que cuando se fertiliza de forma foliar con dos dosis Zn, tanto de forma aislada como en combinación con una aplicación al suelo, la cantidad ingerida incrementa en más del 50% con respecto a la misma forma de aplicación de Zn con urea, alcanzándose en estos casos, aproximadamente el 40% de la ingesta total de Zn diario en España (Figura 4.38).

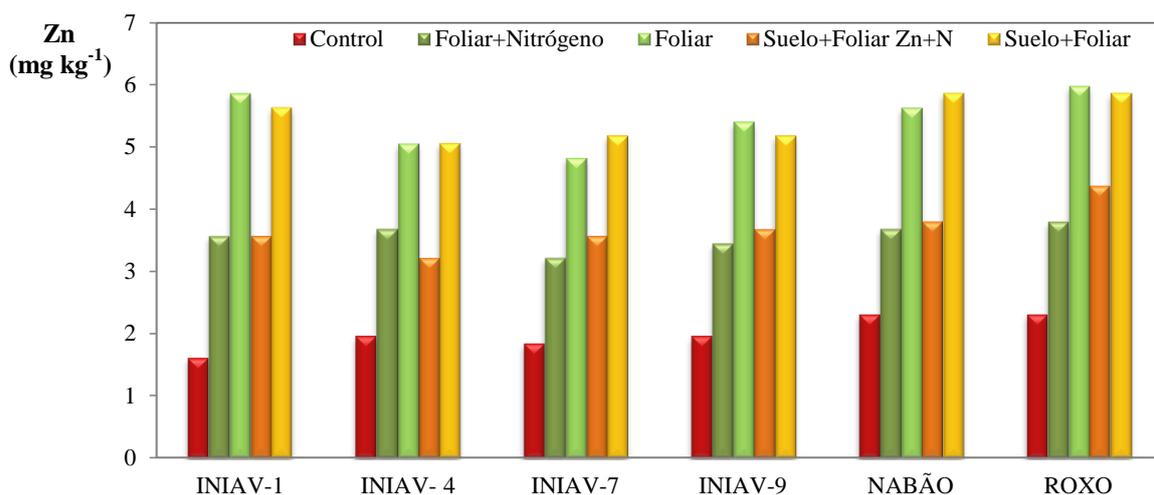


Figura 4.38. Cantidad de Zn aportada por la ingesta de pan de trigo (harina de grano completo) establecida por la FEN, 2007; FAO, 2004; FAO, 2011b e INE, 2014, de los cultivares objeto de estudio, bajo las diferentes formas de aplicación de Zn y N.

Se puede afirmar que una sola aplicación foliar de $4 \text{ kg ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O ha}^{-1}$ combinada con una aplicación de $4 \text{ kg Urea ha}^{-1}$ en la fase de antesis, aunque incrementa las concentraciones de Zn en el grano de forma significativa, el aumento no es suficiente para alcanzar el objetivo los 45 mg Zn kg^{-1} , contenido considerado como adecuado en el grano de trigo para la alimentación de las personas. Por tanto, es la aplicación de dos dosis de Zn foliar, el método más efectivo de incrementar el contenido de Zn total en el grano. Estos granos biofortificados, presumiblemente bien aceptados por los consumidores como *alimentos funcionales*, suponen la estrategia más eficiente y sostenible para incrementar la ingesta de Zn en la dieta de las personas. Es más, aunque la aplicación combinada suelo y foliar obtuvo similares resultados a la aplicación aislada de Zn foliar, esta forma de aplicación supone un coste más elevado para los agricultores al ser muy superior la dosis



de aplicación al suelo. Los cultivares más prometedores sobre los que aplicar estos tratamientos foliares son INIAV-1 y Roxo, ya que produjeron, bajo estas condiciones de clima semiárido mediterráneo, la mayor cantidad de Zn total en el grano y Zn acumulado por hectárea, por lo deberán ser consideradas en futuros programas de biofortificación con zinc.

4.4.2. Efecto sobre la producción del grano, peso hectolitro y peso de los mil granos

La ANOVA para la producción de grano, peso de mil granos, así como peso hectolitro, muestra como éstos estuvieron influenciados por el tratamiento de Zn y urea fertilizante, por el cultivar, así como por la interacción de ambos (a excepción del peso hectolitro) (Tabla 4.21).

Tabla 4.21. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de la producción, peso de 1.000 granos y peso hectolitro, en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Producción	Peso 1000 granos	Peso Hl
Tratamiento Zn+N	4	4,2*	6,9***	82,9***
Cultivar	5	13,6***	235,8***	3,0*
Tratamiento Zn+N x Cultivar	20	3,1***	3,8***	1,5 <i>ns</i>

ns, no significativo; *, *** Significación a un 0,05 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente.

Aunque en un programa de mejora de estas características el potencial de acumulación de Zn en el grano es el principal objetivo, no hay que dejar de lado el potencial productivo. En las parcelas no fertilizadas con Zn las producciones variaron desde 2.653 ± 157 hasta 3.841 ± 174 kg ha⁻¹, con una producción media de 3.331 ± 125 kg ha⁻¹, destacando los cultivares INIAV-1, INIAV-7 e INIAV-9 al presentar producciones superiores a la media en estos suelos deficientes en Zn, mostrando una mayor independencia de los contenidos de Zn para la obtención de rendimientos más que aceptables. La línea avanzada INIAV-7, que había sido seleccionada en el año 2010/2011 por tener una baja producción de grano, mostró ser una de la mas productivas en el año estudiado y para el presente objetivo, corroborando la irregularidad interanual observada en la producción de trigo, característica del clima mediterráneo. En cuanto a la respuesta a los diferentes tratamientos fertilizantes, mientras que el incremento en el rendimiento causado por la aplicación foliar de Zn con urea no fue significativamente diferente de las



parcelas control, la aplicación conjunta de Zn fertilizante suelo+foliar, tanto en la aplicación con Zn como de Zn y urea en antesis, incrementó significativamente la producción en casi todos los cultivares estudiados (excepto INIAV-1 e INIAV-7), aunque sin diferencias significativas entre la aplicación con o sin urea.

De media para todos los cultivares, la producción se incrementó hasta 3.543 ± 70 kg ha⁻¹ M.S. por la aplicación suelo+foliar, y hasta 3.680 kg ha⁻¹ M.S. por la aplicación suelo+foliar+N, suponiendo un 6% y 10% más respecto al tratamiento control (Tabla XXIV y Figura 4.39). Zou *et al.* (2012) obtuvieron incrementos menores en una investigación realizada en 14 localizaciones de siete países, con incrementos de sólo un 5%, aunque sí que fueron similares al incremento obtenido en Pakistán (13,7 %). Esta coincidencia puede ser explicada por los bajos niveles de Zn-DPTA encontrados en los suelos de estos estudios ($0,2$ mg DPTA-Zn kg⁻¹), valores similares a los del presente ensayo ($0,29$ mg Zn kg⁻¹), que llegan a constituir un factor limitante del rendimiento del trigo al crecer en suelos deficientes en Zn. Las plantas de *Triticum aestivum* L. necesitan Zn extraíble en las primeras etapas de crecimiento para desarrollar un sistema radicular mayor, capaz de absorber tanto agua y nutrientes (Rengel y Graham, 1995b; Yilmaz *et al.*, 1998) como Zn (Cakmak *et al.*, 2010a; Erenoglu *et al.*, 2011; Kutman *et al.*, 2012). Que la aplicación foliar no tuviera ningún efecto sobre la producción coincide con los resultados obtenidos por Cakmak *et al.* (2010a) y Zou *et al.* (2012), mientras que sin embargo Aciksoz *et al.* (2011) y Karim *et al.* (2012) sí que encontraron una mejora en el crecimiento general de la planta y en su rendimiento final. Estas formas de aplicación, que a su vez incrementaron de forma más significativa el contenido de Zn en el grano, aumentaron la producción entre un 6 y el 10% debido a la aplicación de Zn con N o de Zn en las aplicaciones combinadas suelo y foliar, aunque fueron éstas fueron las más costosas. En estos casos, se hace necesario las acciones de los gobiernos que alienten a los agricultores a utilizar estos fertilizantes mediante diversas campañas.

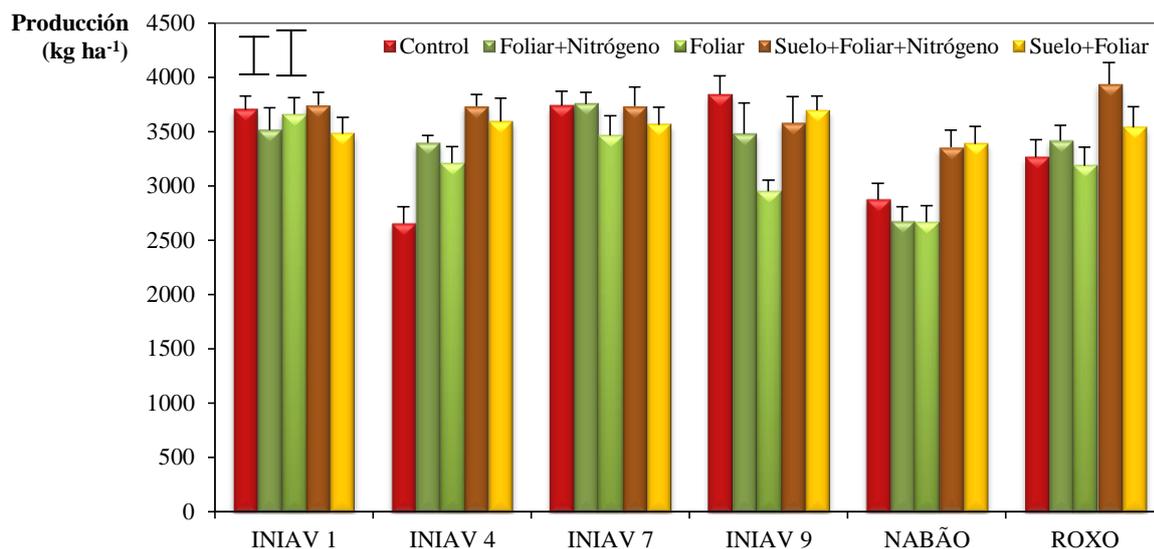


Figura 4.39. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre producción, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones Mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la izquierda, bajo diferentes niveles de aplicación.

El cultivar INIAV-1, que fue seleccionado por obtener una de las mayores producciones en 2010/11, volvió a ser uno de los más productivos, además de ser de los más consistentes; mientras que INIAV-7, que obtuvo una de las menores producciones en 2010/11, motivo por el cual fue seleccionado, siguió tendencia contraria, lo que sugiere la alta sensibilidad que presenta este cultivar ante la sequía, como la acaecida en 2010/11. Además de estos cultivares, destacaron INIAV-9 y Roxo, seleccionados por los altos contenidos en Zn obtenidos en el año 2010/11 y con rendimientos significativamente mayores que INIAV-4; y Nabão al ser significativamente el peor cultivar prácticamente en todos los tratamientos. Estos cultivares obtuvieron, de media para todas las formas de aplicación de Zn y N, producciones superiores a 3.400 kg ha^{-1} , mientras que el cultivar Nabão obtuvo una producción inferior a 3.000 kg ha^{-1} (Tablas XXIV y Figura 4.39).

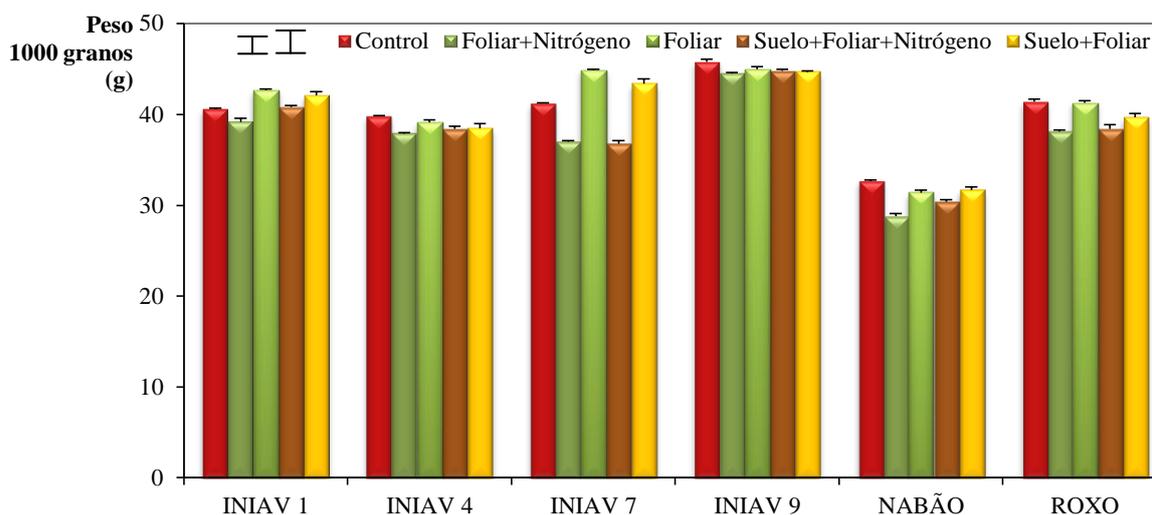


Figura 4.40. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el peso de mil granos, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación.

Respecto al peso de mil granos, la aplicación foliar de Zn+N en antesis provocó pesos significativamente menores, siendo estas diferencias de, aproximadamente, un 9%. Con respecto a los cultivares, INIAV-9 fue el que obtuvo el mayor peso de mil granos en todos los tratamientos, con un peso medio de $44,8 \pm 0,4$ g, mientras que Nabão, con $31 \pm 0,5$ g fue el que menores pesos produjo (Tabla XXV y Figura 4.40). Estos resultados muestran una mayor variabilidad genética que la ocasionada por la fertilización con Zn, como ya expusieran Rangel *et al.* (2004), pudiendo llegar de media a una variación de 14 g entre los cultivares estudiados frente a los aproximadamente 4 g entre los diferentes tratamientos.

Respecto al peso hectolitro, la aplicación foliar de Zn+N en antesis provocó pesos significativamente menores, aunque sólo con diferencias significativas con el tratamiento foliar+N, con pesos hectólitros de $83,2 \pm 0,3$ y $83,8 \pm 0,3$ kg hl⁻¹ respectivamente. En cuanto a los cultivares, fue la variedad comercial Roxo la que produjo el mayor peso hectolitro, con un valor medio de $85,3 \pm 0,2$ kg hl⁻¹; mientras que INIAV-7 e INIAV-9 fueron los de menores peso hectolitro, estando en todos los casos dentro de la categoría de trigo harinero extra de acuerdo al Reglamento CE 824/2000 y al RD 1615/2010 del 11 de diciembre de 2010 (Tabla XXVI y Figuras 4.41 y 4.42).

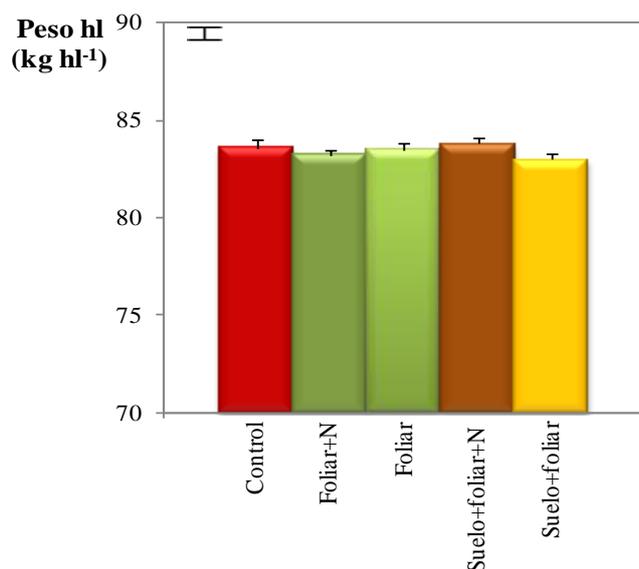


Figura 4.41. Efecto del Zn fertilizante sobre el peso hectolitro en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los tratamientos.

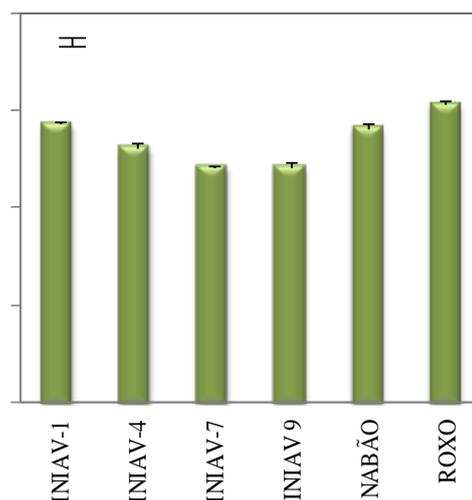


Figura 4.42. Efecto de los cultivares estudiados sobre el peso hectolitro en el año agrícola 2012/13 bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical a la izquierda de la figura indican la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación de los cultivares.

Tanto en el caso del peso de mil granos como en el peso hectolitro, las diferencias encontradas no son lo suficientemente grandes como para ser tenidas en cuenta por los agricultores como factores negativos.

4.4.3. Contenido de proteína del grano

En la Tabla 4.22 se representa los resultados de la ANOVA de los parámetros de calidad estudiados: proteína, índice de sedimentación (SDS) y cenizas. Éstos estuvieron fuertemente influenciados ($P \leq 0,001$) por el tratamiento de Zn, por el cultivar, así como por la interacción entre ambas variables.

Tabla 4.22. ANOVA (g.l. grados de libertad y estadístico F) de los parámetros de calidad proteína, SDS y cenizas, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas.

	g.l.	Proteína	SDS	Cenizas
Tratamiento Zn+N	4	41,1***	15,0***	13,4***
Cultivar	5	6,1***	8,0***	19,2***
Tratamiento Zn+N x Cultivar	20	3,0***	3,3***	2,3***

***Significación a un 0,001 nivel de probabilidad



El contenido proteico de los cultivares en el tratamiento control varió entre $8,6 \pm 0,1$ y $10,7 \pm 0,3\%$, con un contenido medio de $9,5 \pm 0,2\%$, destacando las dos variedades comerciales por presentar un contenido proteico mayor que la media, ambos con más del 10% de proteína. La aplicación conjunta de Zn con urea en antesis, sola o en combinación con la aplicación de Zn al suelo, provocaron un mayor contenido proteico, de tal forma que las concentraciones se incrementaron hasta $9,7 \pm 0,2\%$ y $9,9 \pm 0,2\%$ en las aplicaciones foliar+N y combinada suelo+foliar+N respectivamente. Este hecho es debido al efecto sinérgico existente entre el contenido de Zn y de N establecido por Kutman *et al.* (2010), de tal forma que cuando se incrementan los niveles de Zn y N, las concentraciones de ambos se ven incrementadas, aunque en este estudio la aplicación de N foliar no fue suficiente para incrementar el contenido en Zn hasta niveles adecuados, al igual que Zhang *et al.* (2012). Sin embargo, diversos autores como Ozturk *et al.* (2006) y Cakmak *et al.* (2010a) hallaron que, tras la aplicación de Zn, el contenido en proteína en grano se veía aumentado al ser requerido en la biosíntesis de proteínas (Marschner, 1995a; Cakmak *et al.*, 1989) afectando, por tanto, a la cantidad de proteína en grano (Peck *et al.*, 2008), aunque Yang *et al.* (2011) no encontraron dicha respuesta. En la media de todos los tratamientos, el cultivar Roxo obtuvo el mayor contenido proteico, mientras que INIAV-4 obtuvo el peor (Tabla XXVII y Figura 4.43).

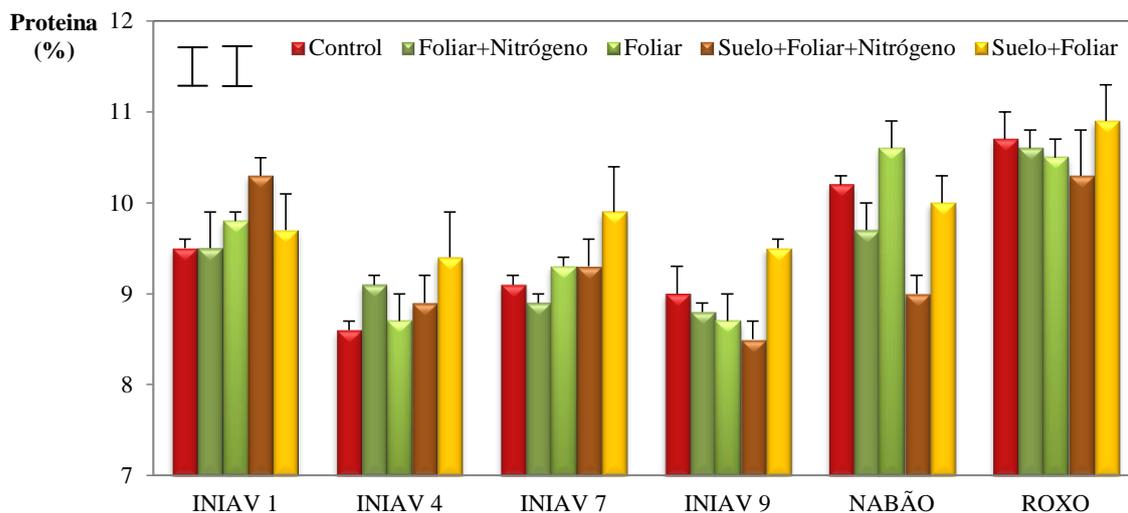


Figura 4.43. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el contenido proteico, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación.



El índice de sedimentación (SDS) de los cultivares, en su tratamiento control, varió desde $49,7 \pm 1,5$ hasta $63,0 \pm 0,8$ mm, con un índice medio de $56,3 \pm 1,4$ mm, destacando los cultivares INIAV-1, INIAV-7, Nabão y Roxo al presentar valores superiores a la media. Con respecto a los tratamientos fertilizantes estudiados, las diferentes formas de aplicación de Zn con N, tanto la aplicación aislada foliar como en la combinada suelo y foliar, provocaron una disminución significativa en el valor de dicho índice, con valores de $53,0 \pm 1,0$ mm tras la aplicación foliar, y hasta $54,6 \pm 1,1$ mm tras la aplicación combinada suelo y foliar. Los cultivares INIAV-1, INIAV-4, Nabão y Roxo fueron los que obtuvieron valores mayores tras las dos formas de aplicación de Zn con N; aunque en la media de todos los tratamientos sólo los cultivares INIAV-7, Nabão y Roxo obtuvieron los valores mayores (Tabla XXVIII y Figura 4.44).

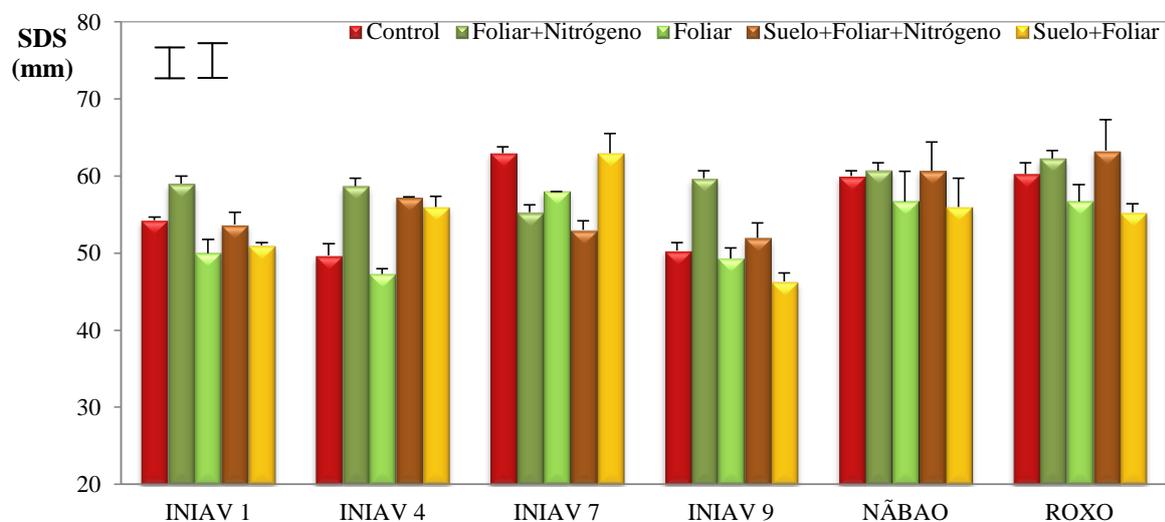


Figura 4.44. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el índice de sedimentación SDS, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación.

El contenido de cenizas varió, en el tratamiento control, desde $1,38 \pm 0,05$ hasta $1,59 \pm 0,07\%$, con un contenido medio de $1,46 \pm 0,02\%$, siendo los cultivares INIAV-1 y Roxo los que obtuvieron concentraciones superiores a la media tanto en el tratamiento control como en la media de todos los tratamientos efectuados. Con respecto a las diferentes formas de aplicación de Zn y N, fue la aplicación suelo+foliar+N la única que provocó una disminución en el porcentaje de cenizas, disminuyendo hasta $1,33 \pm 0,02\%$ (Tabla XXIX y Figura 4.45).

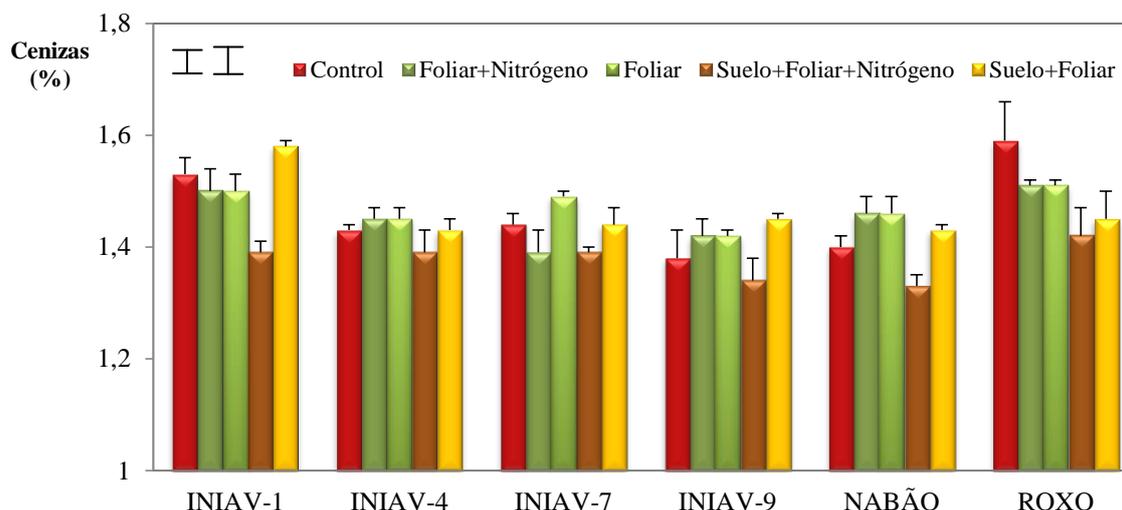


Figura 4.45. Efecto del Zn y urea fertilizante sobre el porcentaje de cenizas en el grano, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas. La barra vertical de cada columna representa su error estándar. La barra vertical indica la LSD ($P \leq 0,05$) para la comparación: a la izquierda, al mismo nivel de aplicación de fertilizante; y a la derecha, bajo diferentes niveles de aplicación.

Por tanto, el contenido de proteínas y cenizas, así como el índice de sedimentación SDS, presentan una marcada carga genética, siendo la variedad comercial Roxo el cultivar que obtuvo la mayor calidad en la media de todos los tratamientos estudiados, y siendo las aplicaciones de Zn con N las que obtuvieron mayor contenido proteico.

4.4.4. Interacción del contenido del Zn en el grano con los parámetros de producción y de calidad.

En este apartado, al igual que en el Objetivo I, se analizan las interacciones existentes entre el contenido de Zn en el grano con la producción de grano, peso de los mil granos, peso hectolitro, así como con el contenido proteico, el índice de sedimentación SDS y el porcentaje de cenizas (Tabla 4.23).



Tabla 4.23. Interacción del contenido de Zn en grano con la producción, peso de mil granos, peso hectólitro, contenido de proteína, índice de sedimentación SDS, porcentaje de cenizas, así como para los diferentes tratamientos realizados con Zn y N fertilizante, en el año agrícola 2012/13, y bajo condiciones mediterráneas.

	N	Producción	1000 granos	Peso hl
Control	18	$y = -62,57x + 4419$ $R^2 = 0,10ns$	$y = -0,61x + 50,59$ $R^2 = 0,15ns$	$y = 0,12x + 81,26$ $R^2 = 0,05ns$
Foliar+N	18	$y = -12,74x + 3766$ $R^2 = 0,01ns$	$y = -0,42x + 50,45$ $R^2 = 0,06ns$	$y = 0,16x + 78,30$ $R^2 = 0,14ns$
Foliar	18	$y = -19,47x + 4114$ $R^2 = 0,06ns$	$y = -0,21x + 50,60$ $R^2 = 0,04ns$	$y = 0,18x + 75,10$ $R^2 = 0,38**$
Suelo+ Foliar+N	18	$y = -17,51x + 4243$ $R^2 = 0,03ns$	$y = -0,23x + 45,51$ $R^2 = 0,03ns$	$y = 0,18x+77,56$ $R^2 = 0,32**$
Suelo+Foliar	18	$y = -11,12x + 4069$ $R^2 = 0,04ns$	$y = -0,21x + 49,90$ $R^2 = 0,06ns$	$y = 0,11x+78,94$ $R^2 = 0,27*$
Todos	90	$y = -2,46x + 3510$ $R^2 = 0,05ns$	$y = -0,01x + 39,92$ $R^2 = 0,01ns$	$y = -0,01x+82,46$ $R^2 = 0,07*$
	N	Proteína	SDS	Cenizas
Control	18	$y = 0,18x + 6,39$ $R^2 = 0,34**$	$y = 0,65x + 44,9$ $R^2 = 0,09$	$y = 0,002x + 1,42$ $R^2 = 0,01ns$
Foliar+N	18	$y = 0,13x + 5,52$ $R^2 = 0,28**$	$y = 0,93x + 30,55$ $R^2 = 0,360**$	$y = 0,01x + 1,11$ $R^2 = 0,31**$
Foliar	18	$y = 0,10x + 4,77$ $R^2 = 0,47***$	$y = 0,2347x + 41,85$ $R^2 = 0,04 ns$	$y = 0,004x + 1,27$ $R^2 = 0,25**$
Suelo+ Foliar+N	18	$y = 0,12x + 5,66$ $R^2 = 0,27**$	$y = 0,59x + 37,84$ $R^2 = 0,14 ns$	$y = 0,006x + 1,13$ $R^2 = 0,10ns$
Suelo+Foliar	18	$y = 0,08x + 6,21$ $R^2 = 0,35**$	$y = 0,22x + 44$ $R^2 = 0,04 ns$	$y = 0,001x + 1,40$ $R^2 = 0,01ns$
Todos	90	$y = 0,02x + 8,77$ $R^2 = 0,14***$	$y = -0,06x + 58,17$ $R^2 = 0,02 ns$	$y = 0,002x + 1,38$ $R^2 = 0,03ns$

ns, no significativo; *, **, *** Significación a un 0,05, 0,01 y 0,001 nivel de probabilidad, respectivamente.

Se observa como tanto la producción de grano como en el peso de mil granos, presentaron correlación negativa, aunque no significativa, bajo todas las formas de aplicación de Zn fertilizante estudiadas, no observándose efecto, por tanto de la sustitución de una aplicación de Zn por N. Sin embargo, en el peso hectolitro se encontró una correlación positiva bajo todas las formas de aplicación, aunque sólo significativa en los tratamientos foliar, suelo+foliar y suelo+foliar+N, aunque la tendencia fue ligeramente negativa cuando se estudiaron todos los tratamientos a la vez. Estos resultados están en consonancia con los expuestos por Morgounov *et al.* (2007) y Gómez-Becerra *et al.* (2010), quienes encontraron dicha correlación negativa debido a que a mayor capacidad de producción de grano de los cultivares menor será la cantidad de Zn en el grano, y a la inversa, fenómeno que se ha denominado como “efecto de dilución” (Fan *et al.*, 2008;



Zhao *et al.*, 2009; Gao y Grant, 2011). Por otra parte, Velu *et al.* (2012) no encontraron ninguna correlación entre el contenido de Zn en el grano y el peso del mismo, de tal forma que si se produjera una reducción muy drástica, ésta podría ser considerada como un problema para los agricultores, al dificultar tanto la nascencia de la planta como el procesado de dichas semillas.

Respecto a la relación existente entre el contenido de Zn y el contenido proteico, estos estuvieron fuertemente correlacionados ($P \leq 0,01$) bajo todas las formas de aplicación de Zn y N analizadas, sin observar diferencias por la sustitución de una aplicación de Zn por N. Estos resultados están en consonancia con los estudios de Cakmak *et al.* (2010a) y Ghasemi *et al.* (2013), y puede ser explicada por la estrecha relación encontrada por Cakmak *et al.* (2004) entre los genes que codifican la acumulación de Zn y los genes que codifican la acumulación de proteínas en el grano. Sin embargo, aunque el índice de sedimentación SDS y el contenido de cenizas estuvieron correlacionados de forma positiva, éstas sólo fueron significativas en la aplicación foliar+N para ambos parámetros, además de la aplicación foliar en el contenido de cenizas (Tabla 4.23).



5. Conclusiones



El presente estudio muestra una evidente influencia del factor medioambiental sobre la producción de grano y el contenido de Zn en el mismo, de tal forma que las bajas precipitaciones acaecidas en la primera quincena de los meses de abril y mayo de 2010/11 produjeron un 46% más de Zn en el grano pero un 67% menos de producción de grano. Las diferentes formas de aplicación de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ presentaron un efecto significativo sobre estos parámetros: la aplicación foliar provocó incrementos superiores a 20 mg Zn kg^{-1} en el grano alcanzando, en todos los cultivares, 45 mg Zn kg^{-1} , nivel considerado como saludable en los granos de trigo harinero; la aplicación al suelo provocó incrementos superiores a 350 kg ha^{-1} en la producción de grano pero no así sobre su contenido de Zn, siendo una práctica interesante desde el punto de vista del agricultor aunque presenta costes más elevados por las altas dosis aplicadas; la aplicación combinada suelo y foliar provocó incrementos de 20 mg Zn kg^{-1} y 180 kg ha^{-1} , respectivamente, siendo ésta una práctica interesante, aunque con costes superiores a la aplicación foliar.

El componente genético (genotipo) tuvo un efecto significativo sobre la producción de grano y el contenido de Zn en el grano. Así, y a pesar de los bajos niveles de Zn-DTPA en el suelo, los cultivares INIAV-1, INIAV-6 e INIAV-9 obtuvieron las mayores producciones y niveles de Zn en el grano en el tratamiento control, junto a las tres variedades comerciales para este último parámetro, mientras que el cultivar INIAV-4 fue el menos productivo. Sin embargo, los bajos niveles de este nutriente en el grano demuestran que la biofortificación genética no es suficiente para producir granos con adecuados niveles, siendo necesaria la combinación con la biofortificación agronómica en la que las diferentes formas de aplicación de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ presentaron efectos significativos sobre los rendimientos y/o los contenidos en Zn. De esta forma y combinando ambas estrategias, los cultivares INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9, Ardila y Roxo, reaccionaron de forma más efectiva a los tratamientos con $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Tanto la longitud de ciclo, altura, peso de mil granos así como el peso hectolitro, fueron significativamente mayores en el año 2012/13 que en el año 2010/11. La aplicación de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ al suelo no provocó un efecto significativo sobre la longitud de ciclo, mostrando ser una característica afectada principalmente por factores genéticos y medioambientales, mientras que esta aplicación incrementó en 3,6 cm la altura media de las plantas, no superándose el límite de 100 cm considerado como adecuado en climas mediterráneos. La aplicación de diferentes tratamientos con $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ no tuvo un efecto



significativo sobre el peso de mil granos aunque sí sobre el peso hectolitro, el cual incrementó bajo todas las formas de aplicación.

Los parámetros de calidad contenido proteico, índice de sedimentación SDS y porcentaje de cenizas fueron significativamente mayores en 2010/11. La aplicación de diferentes tratamientos con $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ no tuvo un efecto significativo sobre el contenido proteico, aunque sí sobre el índice de sedimentación SDS el cual disminuyó bajo todas las formas de aplicación; mientras que la aplicación al suelo, tanto aislada como combinada con la aplicación foliar, provocaron incrementos en el porcentaje de cenizas. El componente genético tuvo un efecto significativo sobre estos parámetros, siendo el cultivar Roxo el que obtuvo la mejor respuesta bajo la aplicación de Zn y los parámetros de calidad estudiados, mientras que INIAV-7 obtuvo mejor respuesta en el índice de sedimentación SDS.

El año afectó significativamente al contenido de macro y micronutrientes, siendo significativamente mayores en 2010/11 en el contenido de P, S, Mg, Fe, Cu y Mn, pero no así en el contenido de K. De igual forma, los diferentes tratamientos con $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ provocaron un efecto significativo sobre el contenido de los nutrientes estudiados del grano: la aplicación al suelo provocó una disminución significativa en el contenido de K, P, Mg, Ca y Cu; la aplicación foliar incrementó las concentraciones de Fe y Cu; y la aplicación combinada suelo y foliar incrementó los contenidos de S, Fe y Mn, aunque disminuyó los contenidos de K, P y Cu. De esta forma se puso en evidencia la inhibición competitiva entre el Zn y Cu en el suelo. Además, se encontró una alta correlación positiva del Fe y S con Zn. El componente genético afectó significativamente al contenido de estos elementos en el grano, siendo el cultivar Roxo el que obtuvo la mejor respuesta a la aplicación de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ y el contenido de P, S, Mg, Cu y Mn; mientras que Ardila lo fue en el contenido de K, Mg, Fe y Cu.

En el Objetivo II se observó que la sustitución de una dosis de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ por una de urea, aunque incrementó en más de 1,8 veces el contenido de Zn en el grano, en comparación con el tratamiento control (sin aplicación de zinc), no alcanzó el nivel de 45 mg Zn kg^{-1} considerado como saludable en los granos de trigo harinero. Fueron necesarias dos aplicaciones de Zn para lograr dicho nivel, alcanzándose incrementos de 2,8 veces el



contenido de Zn del tratamiento control, y siendo INIAV-1 y Roxo los cultivares que obtuvieron mejores respuestas.

Por tanto, la elección de los cultivares más eficientes a la fertilización foliar con dos aplicaciones de 4 kg de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} , sería la estrategia más efectiva para incrementar las concentraciones, tanto de Zn total en el grano como de Zn acumulado por hectárea bajo estas condiciones semiáridas mediterráneas pudiendo ser, el sobrecoste de estas aplicaciones, presumiblemente asumido por los consumidores de estos “*alimentos funcionales*”.



6. Conclusões



Este estudo mostra uma evidente influência do fator ambiental na produção de grão e no teor de Zn no mesmo. Desta forma, as baixas precipitações ocorridas na primeira metade dos meses do abril e maio no ano de 2010/11 produziram 46% mais de Zn no grão e 67% menos na produção do grão. Assim, as diferentes formas de aplicação de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} apresentaram um efeito significativo sobre estes parâmetros: a aplicação foliar provocou aumentos superiores a 20 mg Zn kg^{-1} no grão atingindo, em todas as cultivares, 45 mg Zn kg^{-1} , nível considerado ótimo para grãos de trigo mole; a aplicação no solo provocou aumentos superiores a 350 kg ha^{-1} na produção de grão mas não no seu teor em Zn, sendo uma prática interessante do ponto de vista do agricultor, mas tem custos mais elevados pelas elevadas doses aplicadas; a aplicação combinada no solo e em foliar aumentou em 20 mg Zn kg^{-1} e 180 kg ha^{-1} , respetivamente, sendo esta uma prática interessante, mas com custos mais elevados que a aplicação foliar.

A componente genética (genótipo) teve um efeito significativo na produção de grão e teor em Zn no grão. Assim, e apesar dos baixos níveis do Zn-DTPA no solo, os cultivares INIAV-1, INIAV-6 e INIAV-9 obtiveram as maiores produções e níveis de Zn no grão no tratamento controlo, conjuntamente com as três variedades comerciais para este último parâmetro, enquanto o cultivar INIAV-4 foi o menos produtivo. No entanto, os baixos níveis deste nutriente no grão demonstram que a biofortificação genética não é suficiente para a obtenção de grãos com níveis adequados, sendo necessária a combinação com a biofortificação agronómica onde as diferentes formas de aplicação de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} apresentaram efeitos significativos nas produções de grão e/ou nos teores de Zn. Desta forma, e combinando ambas as estratégias, os cultivares INIAV-1, INIAV-6, INIAV-9, Ardila e Roxo reagiram de forma mais eficiente aos tratamentos com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} .

A duração do ciclo, a altura, o peso dos mil grãos assim como peso da massa do hectolitro, foram significativamente mais elevados no ano 2012/13 que no ano 2010/11. A aplicação de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} no solo não provocou um efeito significativo na duração do ciclo, mostrando ser uma característica afetada principalmente pelos factores genéticos e ambientais, no entanto, esta aplicação aumentou em 3,6 cm a altura média das plantas, não ultrapassando o limite de 100 cm considerado adequado nos climas mediterrânicos. A aplicação dos diferentes tratamentos com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} não teve um efeito



significativo no peso de mil grãos, mas sim na massa do hectolitro, que aumentou em todas as formas de aplicação.

Os parâmetros de qualidade teor proteico, índice de sedimentação SDS e percentagem de cinzas foram significativamente maiores em 2010/11. A aplicação dos diferentes tratamentos com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} não teve um efeito significativo no teor proteico, embora tendo no índice de sedimentação SDS que diminuiu em todas as formas de aplicação; a aplicação no solo, tanto isolada como combinada com a aplicação foliar, provocaram aumentos na percentagem de cinzas. A componente genética teve um efeito significativo nestes parâmetros, sendo a cultivar Roxo a que obteve a melhor resposta em todas as aplicações de Zn e nos parâmetros de qualidade estudados, enquanto que INIAV-7 obteve melhor resposta relativamente ao índice de sedimentação SDS.

O ano também afetou significativamente o teor de macro e micronutrientes, sendo significativamente maiores em 2010/11 o teor de P, S, Mg, Fe, Cu e Mn, mas não o teor de K. De igual forma, os diferentes tratamentos com $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} provocaram um efeito significativo no teor dos nutrientes estudados no grão: a aplicação no solo provocou uma diminuição significativa no teor de K, P, Mg, Ca e Cu; a aplicação foliar aumentou o teor de Fe e Cu; e, a aplicação combinada solo e foliar aumentou o teor de S, Fe e Mn mas diminuiu o teor de K, P e Cu. Desta forma, tornou-se evidente a inibição competitiva entre o Zn e Cu no solo. Adicionalmente, verificou-se uma alta correlação positiva do Fe y S com o Zn. O componente genético afetó significativamente o teor destes elementos no grão, sendo a cultivar Roxo a que obteve a melhor resposta na aplicação de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} e teores de P, S, Mg, Cu e Mn; enquanto que Ardila obteve teores mais elevados de K, Mg, Fe e Cu.

No objetivo II foi observado que a substituição de uma dose de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} por uma de urea (N), aumentou 1,8 vezes o teor de Zn no grão, na comparação com o tratamento controle (sim aplicação de zinco) não alcançando, no entanto, o nível de 45 mg Zn kg^{-1} , considerado ótimo para grãos de trigo mole. Foram necessárias duas aplicações de Zn para chegar a esse nível, obtendo-se aumentos de 2,8 vezes no teor de Zn do tratamento controle, sendo INIAV-1 e Roxo as cultivares que obtiveram as melhores respostas.



Assim, a seleção das cultivares mais eficientes na fertilização foliar com duas aplicações de 4 kg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ha^{-1} cada uma, seria a estratégia mais efetiva no incremento das concentrações de Zn total no grão, assim como no Zn acumulado por hectare, em condições semiáridas mediterrânicas, podendo ser, a diferença de custo destas aplicações, assumida preferencialmente pelos consumidores destes “*alimentos funcionais*”.



7. Referencias



-
- Aciksoz, S.B., Yazici, A., Ozturk, L., Cakmak, I., (2011). Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant Soil*, 349: 215-225.
- AFHSE, (2014). Asociación de fabricantes de harinas y sémolas de España.
- Alam, S.M. (2001). Genetic variations in nutrient contents by wheat and its substitution lines. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4: 642–644.
- Al-Ghamdi, S.M., Cameron, E.C., Sutton, R.A. (1994). Magnesium deficiency: pathophysiologic and clinical overview. *American Journal of Kidney Diseases*, 24: 737–754.
- Al-Khatib, K., Paulsen, G.M. (1984). Mode of high temperature injury to wheat during grain development. *Physiology Plantarum*, 61(3): 363-368.
- Alloway, B.J. (2002). Zinc the vital micronutrient for healthy, high value crops. *International Zinc Association*, Brussels, 8 pp.
- Alloway, B.J. (2004) Zinc in soils and crop nutrition. *International Zinc Association Communications*. IZA, Brussels, Belgium.
- Alloway, B.J. (2008). Zn in the soils and crop nutrition. *International Zn Association, International Fertilizer Industry Association*. Segunda edición. 139 pp.
- Alloway, B.J. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environmental Geochemistry and Health*, 31: 537-548.
- Alturiqi, A.S., Albedair, L.A. (2012). Evaluation of some heavy metals in certain fish, meat and meat products in Saudi Arabian markets. *The Egyptian Journal of Aquatic, Research* 38, (1): 45–49.
- Anda, L., Antons, R. (2004). Variety and environment effects on quality traits in Latvian - grown winter wheat. *Crop science congress*.
- Andreini, C., Banci, L., Rosato, A. (2006). Zn through the three domains of life. *J. Proteome Res.*, 5: 3173–3178.
- Angelido, S.A.G.F., Vanlaarhoeven, H.P.M., Vanwsterop, J.J.M., Broekhuijse, B.M., Mocking, H.C.M. (1997). Total nitrogen content in single kernel malting barley samples. *J. Inst. Brew.*, 103: 41-46.
- Angelone, M., Bini, C. (1992). Trace elements concentrations in soil and plants of Western Europe. Chap 2 in Adriano, D.C. Adriano (ed.), 19-60. *Lewis Publishers*, Boca Raton.
- Arshad, M., Murtaza, G., Arif Ali, M., Shafiq, M., Dumat, C., Ahmed, N. (2011). Wheat growth and phytoavailability of copper and zinc as affected by soil texture in saline sodic conditions. *Pak. J. Bot.*, 43(5): 2433-2439.



- Asociación de la seguridad alimentaria y nutrición (AESAN) (2011). Evaluación nutricional de la dieta española II. Micronutrientes. Sobre datos de la Encuesta Nacional de Ingesta Dietética (ENIDE).
- Assunção, A.G.L., Da Costa Martins, P., De Folter, S., Vooijs, R., Schat, H., Aarts M.G.M. (2001). Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, 24: 217–226.
- Bagci, S.A., Ekiz, H., Yilmaz, Z., Cakmak, I. (2007). Effects of zinc deficiency and drought on grain yield of field-grown wheat cultivars in Central Anatolia. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193: 198-206.
- Baize, D., Bidoglio, G., Cornu, S., Brus, D., Breuning-Madsen, H., Eckelmann, W., Ernstsén, V., Gorny, A., Jones, R.J.A., King, D., Langenkamp, H., Loveland, P.J., Lobnik, F., Magaldi, D., Montanarella, L., Utermann, J., van Ranst, R. (1999) Heavy metals (trace elements) and organic matter content of European soils. A feasibility study. Report by the European Soil Bureau – Scientific Committée, Ispra
- Baize, D. (1997) Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France), INRA Editions, Paris. 409 pp.
- Baligar, V.C., Fageria, N.K., He, Z.L. (2001). Nutrient use efficiency in plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 32: 921–950.
- Bálint, A.F., Kovacs, G., Erdei, L., Sutka, J. (2001). Comparisons of the Cu, Zn, Fe, Ca and Mg contents of the grains of wild, ancient and cultivated wheat species. *Cereal Res., Com.* 29: 375–382.
- Barben, S. A., Hopkins, B.G., Jolley, V.D., Webb, B.L., Nichols, B.A. (2010). Phosphorus and zinc interactions in chelator-buffered solution grown russet Burbank potato. *J. Plant Nutr.* 33:587-601.
- Barber, J. (2003). Photosystem II: the engine of life. *Q. Rev. Biophys.* 36:71-89.
- Barberá, R., Farré, R. (1992). Biodisponibilidad de los elementos traza. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim.*, 34(4): 381-399.
- Barrera, G.N., Bassi, E., Reyes Martínez, R.J., León, A.E., Ribotta, P.D. (2012). Efectos de diferentes fracciones de harinas de trigo pan obtenidas con molino industrial sobre la calidad de galletitas dulces. *Agriscientia*, 29 (2): 69-79.
- Bänziger, M., Long, J. (2000) The potential for increasing the iron and zinc density of maize through plant-breeding. *Food Nutr. Bull.*, 21: 397–400.
- Beckett, P.H.T., Davis, R.D. (1978). The additivity of the toxic effects of Cu, Ni and Zn in young barley. *New Phytol.*, 81: 155-173.
- Beebe, S. Gonzalez, A.V., Rengifo, J. (2000). Research on trace minerals in the common bean. *Food Nutr. Bull.*, 21: 387–391.



- Belenguer, J.I. (2008). Mercados de cereales. Impacto en la industria harinera. Asociacion de fabricantes de harinas y sémolas de España.
- Benton, D. (2008). Micronutrient status, cognition and behavioral problems in childhood. *Eur. J. Nutr.*, 47: 38–50.
- Bermudez, A.J., El-Begearmi, M., Klasing, K.C., Leeson, S. (2012). Mineral Deficiencies in Poultry. En Merck veterinary manual.
- Bertini, I., Rosata, A., (2007). From genes to metalloproteins: a bioinformatic approach, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 18: 2546–2555.
- Bertrand, L.J., Holloway, R.E., Armstrong, R.D., McLaughlin, M.J. (2002) The rapid assessment of concentrations and solid phase associations of macro and micro nutrients in alkaline soils by mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research*, 41: 61-76.
- Bhullar, S.S., Jenner, C.F. (1985). Dufferential responses to high temperatures of starch and nitrogen accumulation in the grain of flour cultivars of wheat. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 12: 363-375.
- Bilgin, O., Korkut, K., Baser, I., Daglioglu, O., Öztürk, I., Kahraman, T., Balkan, Y. (2011). Genetic variation and inter-relationship of some physiological traits in durum wheat (*Triticum durum L.*). *Pak. J. Bot.*, 43(1): 253-260.
- Binz, P.A., Kägi, J.H.R. (1999). Metallothionein: molecular evolution and classification. *Metallothionein IV*, Klaassen C. (Ed.), pp.7-13, Birkhauser Verlag, Basel.
- Black, R.E., Lindsay, H.A., Bhutta, Z.A., Caulfield, L.E., De Onnis, M., Ezzati, M. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*, 371: 243–260.
- Blair, M.W. (2013). Mineral Biofortification Strategies for Food Staples: The Example of Common Bean. *Journal of agriculture and food chemistry.*, 61 (35): 8287-8294.
- Bo, S., Pisu, E. (2008) Role of dietary magnesium in cardiovascular diseases prevention, insulin sensitivity and diabetes. *Curr. Opin. Lipid.*, 19: 50–56.
- Boccio, J., Bressan Monteiro, J. (2004). Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. *Rev. Nutr.* 17 (1). Campinas Jan./Mar. 2004.
- Bodgen, J.D. (2004). Influence of zinc on immunity in the elderly. *J. Nutr. Health Aging.* 8(1): 48-54.
- Boorboori, M.R., Eradatmand Asli, D., Tehrani, M. (2012) *J. Advances in Environmental Biology*, 6(2): 740-746.
- Borg, S., Brinch-Pedersen, H., Tauris, B., Holm, P.B. (2009). Iron transport, deposition and bioavailability in the wheat and barley grain. *Plant Soil*, 325: 15–24.



- Borghini, B., Corbellini, M., Minoia, C., Palumbo, M., Di Fonzo, N., Perezin, M. (1997). Effects of Mediterranean climate on wheat bread-making quality on bread (*Triticum aestivum* L.) Eur. J. Agron., 4: 145-154.
- Borowitzka, L.J. (1981). The microflora—Adaptations to life in extremely saline lakes. Hydrobiologia, 8: 33-46.
- Borrill, P., Connorton, J.M., Balk, J., Miller, A.J., Sanders, D., Uauy, C. (2014). Biofortification of wheat grains with iron and zinc: integrating novel genomic resources and knowledge from model crops. Frontiers in plant science, 5 (53):1-8.
- Bouis, H.E., Welch, R.M. (2010) Biofortification: a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. Crop Sci., 50: 20–32.
- Bouis, H.E., Hotz, C., McClafferty, B., Meenakshi, J.V., Pfeiffer, W.H. (2011). Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition. Food Nutrition Bulletin, 32: 31-40.
- Bouis, H. E. (2003). Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? Proc. Nutr. Soc., 62: 403–411.
- Boyer, J.S. (1968). Relationship of water potential to growth of leaves. Plant physiology 43: 1056-1062.
- Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A. (2007). Zinc in plants. New Phytologist, 173: 677–702.
- Broadley, M.R., Alcock, J., Alford, J., Cartwright, P., Foot, I., Fairweather-Tait, S.J., Hart, D.J., Hurst, R., Knott, P., McGrath, S.P., Meacham, M.C., Norman, K., Mowat, H., Scott, P., Stroud, J.L., Tovey, M., Tucker, M., White, P.J., Young, S.D., Zhao, F.J. (2010). Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular se fertilization. Plant and Soil, 332: 5-18.
- Broadley, M.R., White, P.J. (2010) Eats roots and leaves. Can edible horticultural crops address calcium, magnesium and potassium deficiencies? Proc. Nutr. Soc., 69: 601–612.
- Brock, J.H., Halliday, J.W., Powell, L.W. (1994). Iron metabolism in health and disease. London, WB Saunders. 485 pp., illustrated. Philadelphia, W.B. Saunders. ISBN: 0-7020-1732-9.
- Brown, P.H., Cakmak, I., Zhang, Q. (1993). Form and function of zinc in plants. En Robson, A.D. (ed.) Zinc in Soils and Plants, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 90-106.
- Cakmak, I., Marschner, H. (1988). Increases in membrane permeability and exudation in roots of zinc deficient plants. J. Physiol. Plant., 132: 356-361.
- Cakmak, I., Marschner, H., Bangerth, F. (1989) Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3- acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Exp. Bot., 40: 405–412.



- Cakmak, I., Hengeler, C., Marschner, H. (1994a) Changes in phloem export of sucrose in leaves in response to phosphorus, potassium and magnesium deficiency in bean plants. *J. Exp. Bot.*, 45:1251–1257.
- Cakmak, I., Gulut, K.Y., Marschner, H., Graham, R.D. (1994b). Effects of zinc and iron deficiency on phytosiderophore release in wheat genotypes differing in zinc efficiency. *J. Plant Nutr.*, 17: 1-17.
- Cakmak, I., Oztuërk, L., Marschner, H., Karanlik, S., Ekiz, H., (1996a). Zinc-efficient wild grasses enhance release of phytosiderophores under zinc deficiency. *J. Plant Nutr.*, 19: 551-563.
- Cakmak, I., Sari, N., Marschner, H., Kalayci, A., Yilmaz, A., S., Gülüt, K.Y. (1996b). Dry matter production and distribution of zinc in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. *Plant Soil*, 180: 173-181.
- Cakmak, I., Sari, N., Marschner, H., Ekiz, H., Kalayci, M., Yilmaz, A., Braun, H.J., (1996c). Release of phytosiderophores in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. *Plant Soil*, 180: 183-189.
- Cakmak I, Yilmaz A, Kalayi M, Ekiz H, Torun B, Erenoglu B, Braun HJ (1996d). Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in Central Anatolia. *Plant and Soil*, 180: 165-172.
- Cakmak, I., Ekiz, H., Yilmaz, A., Torun, B., Koëleli, N., Guëltekin, I., Alkan, A., Eker, S., (1997). Differential response of rye, triticale, bread wheat and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. *Plant Soil*, 188: 1-10.
- Cakmak, I., Kalayci, K., Ekiz, H., Braun, H.J., Yilmaz, A. (1999) Zinc deficiency as an actual problem in plant and human nutrition in Turkey: a NATO-science for stability project. *Field Crops Res.*, 60: 175–188.
- Cakmak, I., Graham, R., Welch, R.M. (2002). Agricultural and molecular genetic approaches to improving nutrition and preventing micronutrient malnutrition globally. In *Encyclopedia of Life Support Systems*. Section Ed. I. Cakmak and R.M. Welch, pp.1075-1099, UNESCO-EOLSS Publishers Co. Ltd. U.K.
- Cakmak, I., Torun, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A., Nevo, E., Braun, H.J., Özkan, H., (2004). *Triticum dicoccoides*: an important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 50: 1047–1054.
- Cakmak, I., Kirkby, E.A. (2008) Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage. *Physiol. Plant*, 133: 692–704.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W.H., McClafferty, B., (2010a). Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chem.*, 87: 10–20.
- Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A.A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., Gokmen, O., Ozturk, L., Horst, H.J. (2010b). Biofortification and Localization of Zinc in Wheat Grain. *J. Agric. Food Chem.* 58: 9092–9102.



- Cakmak, I. (2000). Role of zinc in protecting plant cells from reactive oxygen species. *New Phytol.*, 146: 185–205.
- Cakmak, I. (2008a). Zinc Deficiency in Wheat in Turkey. B.J. Alloway (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*. 181-200.
- Cakmak, I. (2008b). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant Soil* 302:1–17.
- Cakmak, I. (2009a). Enrichment of fertilizers with zinc: An excellent investment for humanity and crop production in India. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. Vol. 23 (4): 281-289.
- Cakmak, I. (2009b). Biofortification of Cereal Grains with Zinc by Applying Zinc Fertilizers. *Biokemisk Forening – Danish Society for Biochemistry and Molecular Biology*. <http://www.biokemi.org/biozoom/issues/525/articles/2396>
- Cakmak, I. (2013). Magnesium in crop production, food quality and human health. *Plant Soil*, 368: 1–4.
- Calderini, D.F., Ortiz-Monasterio, I. (2003). Are synthetic hexaploids a means of increasing grain element concentrations in wheat? *Euphytica*, 134:169–178.
- Cámara, F., Amaro, M.A. (2003). Nutritional aspect of zinc availability. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 54(2):143-151.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R.B. (2008). *Campbell & Reece, Biology: Eighth Edition*. Pearson Education, Inc.: San Francisco, CA..
- Chatterjee, S., Rae, A.N., Ray, R. (2006). Food consumption, trade reforms and trade patterns in contemporary India: How do Australia and New Zealand fit in? Discussion Paper No. 06-04 of Department of Applied and International Economics, Massey University, New Zealand.
- Chowdhury, S.I., Wardlaw, I.F. (1978). The effect of temperature on kernel development in cereals. *Australian Journal of Agriculture Research* 29: 205-223.
- Clark, B.C. (1981). *Life in the Universe*. Proceedings of the Conference on Life in the Universe, held at NASA Ames Research Center. Editor, John Billingham. Publisher, MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Classen, H.G. (1984). Magnesium and potassium deprivation and supplementation in animals and man: aspects in view of intestinal absorption. *Magnesium*, 3: 257–264.
- Cobbett, C., Goldsbrough, P. (2002). Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 53: 159–182.
- Coleman, J.E. (1992). Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors, and replication proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 61: 897–946.



- Coleman, J.E. (1998) Zinc enzymes. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2: 222– 234.
- Cook, R.J., Veseth, R.J. (1991). Wheat health management series. St. Paul: APS Press.
- Couretot L., Ferraris, G., Moussegne, F. (2011). Experiencias en el control químico de enfermedades foliares de trigo y cebada en la zona Norte de la Pcia de Bs AS. UCT Agrícola INTA EEA Pergamino.
- Cousins, R.J., Hempe, J.M., Cinc, E.N., Brown, M.L., Filer, L.J., Guthire, H.A. y cols. (1991). Conocimientos actuales sobre nutrición. Séptima Edición. Washington: International Life Sciences Institute, 1999:312-27.
- Davies, K.M. (2007). Genetic modification of plant metabolism for human health benefits. *Mutation Research* 622: 122–137.
- Davis, D.R. (2009). Declining fruit and vegetable nutrient composition: What is the evidence? *Hort Science* 44:15–19.
- De Luis Román, D., Bellido Guerrero, D., García Luna, P.P. (2012). Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo. Sociedad Española de endocrinología y nutrición. Ediciones Díaz de Santos. ISBN 978-84-7978-964-0.
- Demidchik, V., Bowen, H.C., Maathuis, F.J.M., Zavala, S.N., Tester, M.A., White, P.J., Davies, J.M. (2002). Arabidopsis thaliana root nonselective cation channels mediate calcium uptake and are involved in growth. *Plant Journal* 32: 799–808.
- Department of Health of United Kingdom (1991). Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom, (HMSO, London).
- Department of Health (2007). Report on Health and social subjects 41. Dietary reference values for food energy and nutrients for the United Kingdom.
- Dias, A.S. (2007). Parâmetros analíticos de seleção do trigo em ambiente mediterrânico-produção e qualidade. *Disertação de doutoramento*.
- Dick, J.W., Quick, J.S. (1983). A modified screening test for rapid estimation of gluten strength in early-generation durum wheat breeding lines. *Cereal chemistry* 60(4): 315-318.
- Distelfeld, A., Cakmak, I., Peleg, Z., Ozturk, L., Yazici, A.M., Budak, H., Saranga, Y., Fahima, T. (2007). Multiple QTL-effects of wheat Gpc-B1 locus on grain protein and micronutrient concentrations. *Physiologia Plantarum* 129: 635–643.
- Dupont, F.M., Altenbach, S.B. (2003). Molecular and biochemical impacts of environmental factor on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of cereal science*, 38: 133-146.
- Dwivedi, S. L., Sahrawat, K. L., Rai, K. N., Blair, M. W., Andersson, M., Pfeiffer, W.(2012) Nutritionally enhanced staple food crops. *Plant Breed. Rev.* 34: 169–262.



- Eagling, T., Neal, A.L., McGrath, S.P., Fairweather-Tait, S., Shewry, P.R., Zhao, F.J. (2014). Distribution and speciation of iron and zinc in grain of two wheat genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 708-716.
- Eastin, J.D., Castleberry, R.M., Gerik, T.J., Hulquist, J.H., Mahalakshmi, V., Ounguela, V.B., Rice, J.R. (1983). Physiological aspects of high temperature and water stress. pp.91-112. En C.D. Raper, Jr., and P.J. Kramer (ed). *Crop reaction to water and temperature stresses in humid, temperate climates*. Westview Press, Boulder, CO.
- Enriching, L. (1994). *Overcoming vitamin and mineral malnutrition in developing countries*. Washington DC: The World Bank.
- Epstein, E. (1972). *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. John Wiley and Sons, Inc., New York, London, Sydney, Toronto.
- Erdal, I., Yilmaz, A., Taban, S., Eker, S., Cakmak, I. (2002). Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. *J Plant Nutr.* 25:113–127.
- Erenoglu, B., Cakmak, I., Marschner, H., Römheld, V., Eker, S., Daghan, H., Kalayci, M., Ekiz, H., (1996). Phytosiderophores release does not relate well to zinc efficiency in different bread wheat genotypes. *J. Plant Nutr.* 19: 1569-1580.
- Erenoglu, E.B., Kutman, U.B., Ceylan, Y., Yildiz, B., Cakmak, I. (2011). Improved nitrogen nutrition enhances root uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of Zinc (^{65}Zn) in wheat. *New Phytol.*, 189: 438-448.
- EUROSTAT (2014). *Statistics Explained* (http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics_explained/).
- Ezzati, M., Lopez, A.D., Rodgers, A., Vander Hoorn, S., Murray, C.J.L. (2002). Comparative Risk Assessment Collaborating Group. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *THE LANCET*. Vol 360: 1347-1360.
- Fageria, N.K., Baligar, V.C., Li, Y.C. (2008). The role of nutrient efficient plants in improving crop yields in the twenty first century. *J. Plant Nutr.* 31:1121–1157.
- Fan, M.S., Zhao, F.J., Fairweather-Tait, S.J., Poulton, P.R., Dunham, S.J., McGrath, S.V. (2008). Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 22:315–324.
- FAO/WHO (1998). *Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition*, 2nd edition. Joint FAO/WHO expert consultations, Bangkok, Thailand.
- FAO/WHO (2000). *Preliminary report on recommended nutrient intakes*. Joint FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements, FAO, Bangkok, Thailand. September 21-30, 1998, revised July 13, 2000. Food and agricultural organization of the united nations Rome, Italy and World Health Organization, Geneva, Switzerland.



- FAO (2002). Bread Wheat. Improvement and production. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome 2002.
- FAO (2004). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 2004.
- FAO (2007). Base referencia mundial del recurso suelo. Un marco conceptual para la clasificación, correlación y comunicación internacional. Informe sobre recursos mundiales de suelos. 103.
- FAO (2011a). Taller Nacional sobre Biofortificación CIAT. Inseguridad alimentaria y deficiencia de nutrientes en América Latina. Posición y estrategias FAO.
- FAO, (2011b). Perspectivas alimentarias. Análisis de mercados mundiales.
- FAO, (2014). Nota informativa FAO sobre la oferta y la demanda del 5 de junio de 2014.
- Ficco, D.B.M., Riefolo, C., Nicastro, G., De Simone, V., Di Gesù, A.M., Beleggia, R., Platani, C., Cattivelli, L., De Vita, P. (2009). Phytate and mineral elements concentration in a collection of Italian durum wheat cultivars. *Field Crops Res.* 111: 235-242.
- Filatov, V., Dowdle, J., Smirnov, N., Ford-Lloyd, B., Newbury, H.J., Macnair, M.R. (2006). Comparison of gene expression in segregating families identifies genes and genomic regions involved in a novel adaptation, zinc hyperaccumulation. *Molecular Ecology* 15: 3045–3059.
- Fischer, R.A. (2007). The importance of grain or kernel number in wheat: A reply to Sinclair and Jamieson. *Field Crops Res.* (1-2): 15-21.
- Fowler, D. B. (1986). Influence of delayed seeding on yield, hectolitre weight and seed size of stubble-seeded winter wheat and rye grown in Saskatchewan. *Can. J. Plant Sci.* 66: 553-557.
- Food and nutrition board. (1989). Recommended Dietary Allowances, 10th revised edition, (National Academy Press, Washington, DC).
- Fontanetto, H., Quanino, O., Keller, O., Belotti, L., Negro, C., Gialevera, D.(2006). Efecto del Zinc en Trigo en el área central de Santa Fe, Campaña 2005/2006. INTA – Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Información técnica de trigo campaña 2006. Publicación Miscelánea N° 105.
- Fundación Española de la Nutrición (FEN) (2012). Valoración de la Dieta Española de acuerdo al Panel de Consumo Alimentario.
- Geleta, B., Atak, M., Baenziger, P.S., Nelson, L.A., Baltenesperger, D.D., Eskridge, K.M., Shipman, M.J., Shelton, D.R. (2002). Seeding Rate and Genotype Effect on Agronomic performance and End-Use Quality of Winter Wheat. *Crop Sci.* 42, 827–832.
- Galinha, C., Freitas, M.C., Pacheco, A. (2013). Elemental characterization of bread and durum wheat by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 297, 221-226.



- Gao, X., Grant, C.A. (2011). Cadmium and Zinc Concentration in Grain of Durum Wheat in Relation to Phosphorus Fertilization, Crop Sequence and Tillage Management. *Applied and Environmental Soil Science*, 2012: 1-10.
- García, A. (2006). Ingesta de Nutrientes: Conceptos y Recomendaciones Internacionales (2ª Parte). *Nutr. Hosp.*, 21(4): 437-47.
- Garrido-Lestache, E., López-Bellido, R.J., López-Bellido, L. (2004). Effects of N rate, timing and splitting and N type on bread making quality in hard red spring wheat under rainfed Mediterranean conditions. *Field crop research*, 85: 213-236.
- Garvin, D.F., Welch, R.M., Finlay, J.W. (2006). Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentration of U.S. hard red winter wheat germplasm. *J. Sci. Food Agric.* 86: 2213-2220.
- Gate, P.H. (1995). Le role de l'azote sur l'élaboration de la teneur en proteines du grains. *Perspectives agricoles*. 203: 44-48.
- Gebbing, T., Schnyder, H. (1999). Pre-Anthesis Reserve Utilization for Protein and Carbohydrate Synthesis in Grains of Wheat. *Plant Physiology*, 121: 871-878.
- Gelin, J.R., Forster, S., Grafton, K.F., McClean, P.E., Rojas-Cifuentes, G.A. (2007). Analysis of seed zinc and other minerals in a recombinant inbred population of navy bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Crop Sci.* 47:1361-1366.
- Genc, Y., McDonald, G.K., Graham, R.D. (2000). Effect of seed zinc content on early growth of barley (*Hordeum vulgare* L.) under low adequate soil zinc supply. *Aust. J. Agric. Sci.*, 51: 37-46.
- Germida, J.J., Janzen, H.H. (1993). Factors affecting the oxidation of elemental sulfur in soils. *Fertilizer research*, 35 (1-2): 101-114.
- Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Afyuni, M., Hadadzadeh, H. (2013). The effectiveness of foliar applications of synthesized zinc-amino acid chelates in comparison with zinc sulfate to increase yield and grain nutritional quality of wheat. *European Journal of Agronomy*, 45: 68-74.
- Gibson, R.S. (2006). Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. *Proc. Nutr. Soc.* 65:51-60.
- Gibson, R.S., Hess, S.Y., Hotz, C., Brown, K.H. (2008). Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *Br. J. Nutr.* 99:14-23.
- Gómez-Becerra, H.F., Erdem, H., Yazici, A., Tutus, Y., Torun, B., Ozturk, I., Cakmak, I. (2010). Grain concentrations of protein and mineral nutrients in a large collection of spelt wheat grown under different environments. *Journal of Cereal Sc.*, 52: 342-349.
- González-Reimers, E., Martínez-Riera, A., Santolaria-Fernández, F. (1998). Relative and combined effects of ethanol and protein deficiency on zinc, iron, copper and manganese contents in different organs and urinary and fetal excretion. *Alcohol*. 16:7-13.



- Gooding, M.J., Fan, M.S., McGrath, S.P., Shewry, P.R., Zhao, F.J. (2012). Contrasting effects of dwarfing alleles and nitrogen availability on mineral concentrations in wheat grain. *Plant and Soil*, 360: 93-107.
- Gragnotati, M., Shekar, M., Das Gupta, M., Bredenkamp, C., Lee, Y.K. (2005). India's undernourished children: a call for reform and action. HNP Discussion Paper. Washington, DC: World Bank.
- Graham, R.D., Webb, M. (1991). Micronutrients and resistance and tolerance to disease. In: Mortwedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M., Welch, R.M. (Eds.). *Micronutrients in Agriculture* 2nd edn. Soil Science Society of America Madison, Wisconsin, 329-370.
- Graham, R.D., Ascher, J.S., Hynes, S.C. (1992). Selecting zinc efficient cereal genotypes for soils of low zinc status. *Plant Soil* 146: 241-250.
- Graham R.D., Welch R.M. (1996) Breeding for staple-food crops with high micronutrient density. *Agricultural Strategies for Micronutrients Working Paper No. 3*. International Food Policy Research Institute, Washington, DC, 11–72.
- Graham, R.D., Senadhira, D., Beebe, S.E., Iglesias, C. A. (1998). Strategy for breeding staple-food crops with high micronutrient density. *Soil Sci Plant Nutr.* 43:1153–1157.
- Graham, R.D., Senadhira, D., Beebe, S., Iglesias, C., Monasterio, I. (1999). Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crops Res.*, 60: 57–80.
- Graham, R.D., Welch, R.M., Saunders, D.A., Ortiz-Monasterio I., Bouis, H.E., Bonierbale, M., Haan, S., Burgos, G., Thiele, G., Liria, R., Meisner, C.A., Beebe, S.E., Potts, M.J., Kadian, M., Hobbs, P.R., Gupta, R.K., Twomlow, S.J. (2007). Nutritious subsistence food systems. *Adv. Agron.* 92: 1-74.
- Grantham-McGregor, S.M., Ani, C.C. (1999). The role of micronutrients in psychomotor and cognitive development. *British medical Bulletin* 55: 511-527.
- Grath, S.P., Chang, A.C., Page, A.L., Witter, E. (1994). Land application of sewage sludge: scientific perspectives of heavy metal loading limits in Europe and the United States. *Environmental Reviews*, 2: 108-118.
- Gregorio, G.B., Senadhira, D., Htut, H., Graham, R.D. (2000). Breeding for trace mineral density in rice. *Food Nutr. Bull.* 21:382-386.
- Gross, J., Stein, R.J., Fett-Neto, A.G., Fett, J.P. (2003). Iron homeostasis related genes in rice. *Genetics and Molecular Biology* 26: 477–497.
- Grotz, N., Guerinot, M.L. (2006). Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta* 1763: 595–608.
- Grusak, M.A., Pearson, J.N., Marentes, E. (1999). The physiology of micronutrient homeostasis in field crops. *Field crops Res.* 60: 41-56.



- Grusak, M.A., Cakmak, I. (2005). Methods to improve the crop delivery of minerals to humans and livestock. In *Plant Nutritional Genomics*. Broadley, M.R., White, P.J. (eds). 265–286.
- Hänsch, R., Mendel, R.R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12: 259–266.
- Hansard, S., Mohammed, A., Turner, J. (1968). Gestation age effects upon maternal-fetal zinc utilization in the bovine. *J. Anim. Sci.* 27: 1097–1102.
- Harsard, S., Mohammed, A., Turner, J. (1968). Gestation age effects upon maternal-fetal zinc utilization in the bovine. *J. Anim. Sci.* 27: 1097-1102.
- Hart, D.J., Fairweather-Tait, S.J., Broadley, M.R., Dickinson, S.J., Foot, I., Knott, P., McGrath, S.P., Mowat, H., Norman, K., Scott, P.R., Stroud, J.L., Tucker, M., White, P.J., Zhao, F.J., Hurst, R. (2011). Selenium concentration and speciation in biofortified flour and bread: Retention of selenium during grain biofortification, processing and production of Se-enriched food. *Food Chem.* 126: 1771-1778.
- HarvestPlus (2014). Crops and countries.
- Haslett, B.S., Reid, R.J., Rengel, Z. (2001). Zinc mobility in wheat: uptake and distribution of zinc applied to leaves and roots. *Annals of Botany* 87: 379–386.
- Hawkesford, M.J., Zhao, F.J. (2007). Strategies for increasing the selenium content of wheat. *Journal of Cereal Science* 46: 282-92.
- Hay, R.K.M., Kirby, E.J.M. (1991). Convergence and synchrony- a review of the coordination of development in wheat. *Australian journal of agricultural research* 42: 661-700.
- Haydon, M.J., Cobbett, C.S. (2007a). Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *New Phytologist* 174: 499–506.
- Haydon, M.J., Cobbett, C.S. (2007b). A novel major facilitator superfamily protein at the tonoplast influences zinc tolerance and accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 143: 1705–1719.
- Hebbern, C.A., Laursen, K.H., Ladegaard, A.H., Schmidt, S.B., Pedas ,P., Bruhn, D., Schjoerring, J.K., Wulfsohn, D., Husted, S. (2009). Latent manganese deficiency increases transpiration in barley (*Hordeum vulgare*). *Physiol. Plant*, 135: 307-316.
- Hemantaranjan, A., Garg, O.K. (1988). Iron and zinc fertilization with reference to the grain quality of *Triticum aestivum* L. *Journal of Plant Nutrition*, 11: 1439–1450.
- Hermans, C., Bourgis, F., Faucher, M., Strasser, R.J., Delrot, S., Verbruggen, N. (2005) Magnesium deficiency in sugar beets alters sugar partitioning and phloem loading in young mature leaves. *Planta*, 220: 541–549.
- Hershinkel, M., (2006). Zn²⁺ a dynamic signaling molecule. In *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification. From Microbes to Man* (Tamas, M.J. y Martinoia, E., eds.), 131– 152.



- Holloway, R.E., Graham, R.D., McBeath, T.M., Brace, D.M. (2010). The use of zinc-efficient wheat cultivar as an adaptation to calcareous subsoil: a glasshouse study. *Plant Soil*, 336: 15-24.
- Holmgren, C.G.S., Meyer, M.W., Chaney, R.L., Daniels, R.B. (1993). Cadmium, lead, zinc, copper and nickel in agricultural soils in the United States. *Journal of Environmental Quality*, 22: 335-348.
- Hopkins, B.G., Whitney, D.A., Lamond, R.E., Jolley, V.D. (1998). Physiodesophore releas by sorghum, wheat and corn under zinc deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 21:2623-2637.
- Hoseney, R.C. (1994). *Principles of Cereal Science and Technology*, 2nd edn., American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, USA.
- Hotz, C., Brown, K.H. (2004). Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr. Bull.* 25: 94–204.
- House, W.A., Van Campen, D.R., Welch, R.M. (1996). Influence of dietary sulfur containing amino acids on the bioavailability to rats of zinc in corn kernels. *Nutrition Research* 16: 225-235.
- Huang, C., Barker, S.J., Langridge, P., Smith, F.W., Graham, R.D. (2000). Zinc deficiency up-regulates expression of high-affinity phosphate transporter genes in both phosphate-deficient and sufficient barley roots. *Plant Physiology*, 124: 415-422.
- Hussain, S., Maqsoodm M.A., Rahmatullah. (2010). Increasing grain zinc and yield of wheat for the developing world: A Review. *Emir. J. Food Agric.* 22 (5): 326-339.
- Hussain, S., Maqsood, M.A., Rengel, Z., Aziz, T. (2012). Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application. *Plant and Soil.* 361(1-2): 279-290.
- Instituto Nacional de Estadística de Portugal (INE) (2014). Consumo humano de cereais per capita (kg/ hab.) por Espécie de cereais. INE, Balanços de Aprovisionamento de Produtos Vegetais. 1989/90 a 2012/13.
- International Life Sciences Institute (ILSI) Europe, (1990). Recommended daily amounts of vitamins and minerals in Europe. *Nutrition Abstracts and Reviews*, series A 60, 827-842.
- International Zinc Asociation (IZA) (1997). *Zinc in the Environment*. Segunda edición. 1-24.
- International Zinc Asociation (IZA) (2004). *Zinc for better health*.
- Institute of Medicine. (IoM). (2001). *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*. Washington DC: National Academy Press. 800 pp.
- Institute of Medicine. (IoM). (2005). *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements for water, Potassium, sodium, chloride and sulfate*. The national academy press. 617 pp.



- Islam, F.M.A., Basford, K.E., Jara, C., Redden, R.J., Beebe, S. (2002). Seed compositional and disease resistance differences among gene pools in cultivated common bean. *Genet. Res. Crop Evol.* 49: 285–293.
- Ismail, A.M., Heuer, S., Thomson, M.J., Wissuwa, M. (2007). Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils. *Plant and Soil* 65: 547–570.
- ISO 11048 (1995). Soil quality: Determination of water-soluble and acid-soluble sulfate. ISO TC 190/SC 3/WG 3.
- Jackson, M.J. (1989). Physiology of zinc: general aspects. In: Zinc in human biology. C.F. Mills, Ed. . Springer London (Ed). pp. 1-14.
- Jenner, C.F. (1991a). Effects of exposure of wheat ears to high temperature on dry matter accumulation and carbohydrate metabolism in the grain of two cultivars. I. Immediate responses. *Australian journal of plant physiology* 18: 165-177.
- Jenner, C.F. (1991b). Effects of exposure of wheat ears to high temperature on dry matter accumulation and carbohydrate metabolism in the grain of two cultivars. II. Carry-over effects, *Australian journal of plant physiology*, 18: 179-190.
- Johnson, V.A., Mattern, P.J. (1987). Wheat, rye and triticale. In: Olson, R.A., Frey, K.J. (Eds.). Nutritional quality of cereal grains: Genetic and agronomy improvements. N°28. American society of agronomy. Inc. Madison, WI, USA. pp.133-182.
- Joshi, A.K., Crossa, I., Arun, B., Chand, R., Trethowan, R., Vargas, M., Ortiz- Monasterio, I., (2010). Genotype environment interaction for zinc and iron concentration of wheat grain in eastern Gangetic plains of India. *Field Crops Res.* 116: 268-277.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1992). *Trace Elements in Soils and Plants* (2nd edn.) CRC Press, Boca Raton. 365 pp.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1999). *Biogeochemistry of Trace Elements*, 2nd ed., Wyd. Nauk PWN, Warsaw. 400 pp.
- Kabata-Pendias, A., (2011). *Trace Elements in Soils and Plants* (4th edn.) CRC Press, Boca Raton. 505 pp.
- Kalayci, M., Torun, B., Eker, S., Aydin, M., Ozturk, L., Cakmak, I. (1999). Grain yield, zinc efficiency and zinc concentration of wheat cultivars grown in a zinc-deficient calcareous soil in field and greenhouse. *Field Crops Res.* 63:87–98.
- Karim, M.R., Zhang, Y.Q., Zhao, R.R., Chen, X.P., Zhang, F.S., Zou, C.Q. (2012). Alleviation of drought stress in winter wheat by late foliar application of zinc, boron and manganese. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175: 142-151.
- Khan, M.A., Fuller, M.P., Baluch, F.S. (2008). Effect of Soil Applied Zinc Sulphate on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grown on a Calcareous Soil in Pakistan. *Cereal Research Communications* 36: 571–582.



- Kiekens, L. (1995). Zinc, in Alloway, B.J. (ed.) *Heavy Metals in Soils* (2nd edn.). Blackie Academic and Professional, London, 284-305.
- Khoshgofarmanesh, A.H., Schulin, R., Chaney, R.L., Daneshbakhsh, B., Afyuni, M. (2010). Micronutrient-efficient genotypes for crop yield and nutritional quality in sustainable agriculture: A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30:83–107.
- Kirchgessner, M. (1993). Mitteilungen des ausschusses für r bedarfsnormen der gesellschaft für ernährungsphysiologie. Überarbeitete empfehlungen zur versorgung von milchkühen mit calcium und phosphor. Revised recommendations for supply of calcium and phosphorus to dairy cows.). *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 42:108– 113.
- Knoema (2014). Production Statistics - Crops, Crops Processed - August 2014. <http://knoema.es/atlas/Portugal/topics/Agricultura/Producci%C3%B3n-de-Cultivos-Superficie-Cultivada/Trigo>.
- Kopsell, D.E., Kopsell, D.A. (2006). Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. *Trends in Plant Science*, 11(10): 499-507.
- Krämer, U., Clemens, S. (2006). Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants, molecule. In *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification. From Microbes to Man* (Tama`s, M.J. and Martinoia, E., eds), 216–271.
- Krämer, U., Talke, I.N., Hanikenne, M. (2007). Transition metal transport. *FEBS Letters* 581: 2263–2272.
- Kranner, I., Colville, L. (2011). Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 72: 93–105.
- Krauskopf, K.B. (1979). *Introduction geochemistry*. McGraw-Hill, New York. 672pp.
- Kühn, L.C. (1996). Control of cellular iron transport and storage at the molecular level. In: Hallberg L, Asp N-G, eds. *Iron nutrition in health and disease*. London, John Libbey, 17–29.
- Kumar, M., Babel, A.L. (2011). Available Micronutrient Status and Their Relationship with Soil Properties of Jhunjhunu Tehsil, District Jhunjhunu, Rajasthan, India. *Journal of Agricultural Science*, 3:97-106.
- Kutman, U.B., Yildiz, B., Ozturk, L., Cakrnak, I. (2010). Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. *Cereal Chem.* 87: 1-9.
- Kutman U.B., Yildiz B., Cakmak I. (2011a). Improved nitrogen status enhances zinc and iron concentrations both in the whole grain and the endosperm fraction of wheat. *Journal of Cereal Science*, 53: 118–125.
- Kutman, U.B., Yildiz, B., Cakmak, I., (2011b). Effect of nitrogen on uptake, remobilization, and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant Soil*, 342: 149-164.



- Kutman, U.B., Kutman, B.Y., Ceylan, Y., Ova, E.A., Cakmak, I. (2012). Contributions of root uptake and remobilization to grain zinc accumulation in wheat depending on post-anthesis zinc availability and nitrogen nutrition. *Plant and Soil*, 361: 177-187.
- Lane, B., Kajioka, R., Kennedy, T. (1987). The wheat germ Ec protein is a zinc-containing metallothionein. *Biochem. Cell Biol.*, 65: 1001–1005.
- Lindsay, W.L., Norvell, W.A. (1969). Development of a DTPA micronutrient soil test. *Agron. Abstr.* pp. 84.
- Lindsay, W.L., Norvell, W.A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 42: 421-428.
- Lindsay, W.L. (1972) Zinc in Soils and Plant Nutrition, *Advances in Agronomy*, 24: 147-186.
- López-Bellido, L., López-Bellido, R.J., Castillo, J.E., López-Bellido, F.J. (2001). Effects of long-term tillage, crop rotation and nitrogen fertilization on bread-making quality of hard red spring wheat. *Field Crops Research*, 72: 197-210.
- López-Bellido, L. (2001). *Cultivos Herbáceos. Vol I: Cereales*. Mundi-Prensa (ed), Madrid.
- López-Millán, A.F., Ellis, D.R., Grusak, M.A. (2004). Identification and characterization of several new members of the ZIP family of metal ion transporters in *Medicago trunculata*. *Plant Molecular Biology*, 54: 583–596.
- Lott, J.N.A., Spitzer, E. (1980). X-ray analysis studies of elements stored in protein body globoid crystals of triticum grains. *Plant Physiol.*, 66:494–499.
- Lu, X., Tian, X., Cui, J., Zhao, A., Yang, X., Mai, W. (2011). Effects of combined phosphorus-zinc fertilization on grain zinc nutritional quality of wheat grown on potentially zinc-deficient calcareous soil. *Soil Science*. 176 (12): 684-690.
- Lyons, G., Stangoulis, J., Graham, R. (2003). High-selenium wheat: biofortification for better health. *Nutrition Research Reviews* 16: 45–60.
- Lyons, G., Ortiz-Monasterio, I., Stangoulis, J., Graham, R. (2005a). Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? *Plant and Soil* 269: 269–380.
- Mabesa, R.L., Impa, S.M., Grewal, D., Johnson-Beebout, S.E. (2013). Contrasting grain-Zn response of biofortification rice (*Oryza sativa* L.) breeding lines to foliar Zn application. *Field Crops Research* 149: 223-233.
- Maças, B. (1996). Definição de Criterios de Selecção de trigo mole (*Triticum aestivum* L.) para as condições do ambiente mediterrânico do Sul de Portugal. Dissertação apresentada no Instituto Nacional de Investigação Agraria para efeitos de concurso para Investigador Auxiliar.
- Maças, B., Gomez, C., Dias, A.S. (1999). Efeito das temperaturas elevadas durante o enchimento do grão em trigo mole e rijo no Sul de Portugal. *Melhoramento*, 36: 27-45.



- Malle, K.G. (1992). Zink in der Umwelt. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 20, 4: 196-204.
- Marschner, H. (1993) Zinc uptake from soils. In Robson, A.D. (Ed.) *Zinc in Soils and Plants*, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 59–77.
- Marschner, H. (1995a) *Mineral nutrition of higher plants* (2nd edn.), Academic, London.
- Marschner, H. (1995b). *Accounting Principles Fifth Canadian Edition. Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, London, UK.
- Martens, D.C., Westermann, D.T. (1991). Fertilizer applications for correcting micronutrient deficiencies. In: Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M., Welch, R.M. (Eds.). *Micronutrients in Agriculture. Second Edition. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin*, 549-592.
- Martínez, J.A. (1996). *Nutrición y Recomendaciones Dietéticas. Fundamentos Teórico-Prácticos de Nutrición y Dietética*. Ediciones EUNATE, Pamplona. pp 71-79.
- Mascotti, D.P., Rup, D., Thach, R.E. (1995). Regulation of iron metabolism: translational effects mediated by iron, heme and cytokines. *Annual Review of Nutrition*, 15: 239–261.
- Mathews, M.A., Boyer, J.S. (1984). Acclimation of photosynthesis to low leaf water potentials. *Plant Physiology* 74: 161–166.
- McGrath, S.P., Loveland, P.J. (1992). *Soil Geochemical Atlas of England and Wales*, Blackie Academic and Professional, Glasgow, 101 pp.
- McGrath, S.P. (1985). The effects of increasing yields on the macro and microelement concentrations and offtakes in the grain of winter wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36: 1073-1083.
- McCay Buis, T.S., Huber, D.M., Graham, R.D., Phillips, J.D., Miskin, K.E. (1995). Manganese seed content and take all of cereals. *J.Plant Nutr.*, 18: 1711-1721.
- McDonald, G.K., Genc, Y., Graham, R.D. (2008). A simple method to evaluate genetic variation in grain zinc concentration by correcting for differences in grain yield. *Plant and Soil*, 306: 49–55.
- McDonald, G.K., Mousavvi Nik, M. (2009). Increasing the supply of sulphur increases the grain zinc concentration in bread and durum wheat. UC Davis: *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*.
- Meenakshi, J.V., Jhonson, N.L., Manyong, V.M., Degroote, H., Javelosa, J., Yanggen, D.R., Naher, F., Gonzalez, C., García, C., Meng, E. (2010). How Cost-Effective is Biofortification in Combating Micronutrient Malnutrition? An Ex ante Assessment. *World Development*. Vol. 38 (1) 64–75.
- Miller, J.K., Miller, W.J. (1962). Experimental zinc deficiency and recovery of calves. *J. Nutr.*, 76: 467–472.



- Miller, W.J., Amos, H.E., Gentry, R.P., Blackmon, D.M., Durrance, R.M., Crowe, C.T., Fielding, A.S., Neathery, M.W. (1989). Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. *J. Dairy Sc.* 72: 1499-1508.
- Miller, W.J. (1970). Zinc nutrition in cattle: a review. *J. Dairy Sc.* 53: 1123-1135.
- Milner, M.J., Kochian, L.V. (2008). Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. *Annals of Botany* 102: 3-13.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (1989). Hojas divulgativas: La calidad de los trigos. 2/89. 24pp.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Consumo Alimentario en España. (1990). Tomo II. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. 965-1801.
- Ministerio de Agricultura, alimentación y medio ambiente (2009). La alimentación en España, resumen de los datos más relevantes. Julio 2008 - Junio 2009.
- Ministerio de Agricultura, alimentación y medio ambiente (2014a). Agricultura, alimentación y medio ambiente en España 2013. Ed. Ministerio de agricultura, alimentación y medio ambiente, secretaría general técnica.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2014b). Datos de consumo alimentario en España 2013.
- Monasterio, I., Graham, R.D., (2000). Breeding for trace minerals in wheat. *Food Nutr. Bull.* 21, 392-396.
- Morgonov, A., Gómez-Becerra, H. F., Abugalieva, A., Dzhunusova, M., Yessimbekova, M., Muminjanov, H., Zelenskiy, Y., Ozturk, L., Cakmak, I., (2007). Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica*, 155: 193-203.
- Moyad, M.A. (2004). Zinc for prostate disease and other conditions: a little evidence, a lot of hype, and a significant potential problem. *Urol. Nurs.* 24(1):49-52.
- Mufarrege, D.J., Aguilar, D.E. (2001). Suplementación con zinc de los bovinos para carne en la provincia de Corrientes (Argentina).E.E.A. INTA Mercedes, Corrientes, Noticias y Comentarios N° 348.
- Murphy, K.M., Reeves, P.G., Jones, S.S. (2008). Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars. *Euphytica* Vol. 163 (3): 381-390.
- Naciones Unidas (2010). Millennium development goals report 2010. UN Web service Section. <http://www.un.org/millenniumgoals/>.



- Nair, T.V.R., Chatterjee, S.R. (1990). Nitrogen metabolism in cereals: Case studies in wheat, rice, maize and barley. In: "Nitrogen in higher plants" (Eds. Y.P. Abrol). Research studies press. Ltd., Somerset, England, pp. 347-426.
- National Research Council. (1985). Ruminant Nitrogen Usage. Washington D.C.: National Academy Press.
- National Research Council (1998). Nutrient Requirements of Swine. 10th ed. Washington, DC: Natl. Academy of Sci., 1998.
- National Research Council. Dietary (NRC). (2001). Reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Institute of Medicine/Food and Nutrition Board. National Academy Press. Washington DC. New York, 37-46.
- Navarro Blaya, S., Navarro García, G. (2003). Química agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. 2nd edición. Ed.Mundiprensa. 487 pp.
- Nawab, K., Amanullah, ARIF, M., Shah, P., Rab, A., Khan, M.A., Khan, M.A., Khan, K. (2011). Effect of FYM, Potassium and zinc on phenology and grain. Pak. J. Bot. 43: 2391-2396.
- Nestel, P., Bouis, H.E., Meenakshi, J.V., Pfeiffer, W. (2006) Biofortification of staple food crops. J. Nutr. 136: 1064-1067.
- Neue, H.U.C., Quijano, D., Senadhira, T., Setter. (1998). Strategies for dealing with micronutrient disorders and salinity in low land rice systems. Field Crops Research 56 (1-2): 139-155.
- Niu, J., Zhang, W., Ru, S., Chen, X., Xiao, K., Zhang, X., Assaraf, M., Imas, P., Magen, H., Zhang, F. (2013). Effects of potassium fertilization on winter wheat under different production practices in the North China Plain. Field Crops Research, 140: 69-76.
- OCDE/FAO (2013). OCDE-FAO Perspectivas agrícolas 2013-2022. Texcoo, Estado de México, Universidad autónoma de Chapingo.
- Oikeh, S.O., Menkit, A., Maziya-Dixon, B., Welch, R., Glahn, R.P. (2003). Assessment of concentrations of iron and zinc and bioavailable iron in grains of early-maturing tropical maize varieties. J. Agric. Food Chem. 51: 3688-3694.
- Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F., Dean, L. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular Nr 939, US Gov. Print. Office, Washington, D.C.
- Ortega, R.M., Requejo, A.M., Andrés, P., López-Sobales, A.M., Quintas, M.E., Redondo, M.R., Navia, B., Rivas, T. (1997). Dietary intake and cognitive function in a group of elderly people. The American Journal of Clinical Nutrition 66: 803-809.
- Orth, R.A., Shellenberger, J.A. (1988). Origin, production, and utilisation of wheat. In Y. Pomeranz, ed. Wheat chemistry and technology, Vol. 3. St Paul, MN, USA, American Association of Cereal Chemists.



- Ortiz-Monasterio, I., Graham, R.D. (2000). Breeding for trace mineral in wheat. *Food Nutr. Buell.*, 21: 392-396.
- Ortiz-Monasterio, J.I., Palacios-Rojas, N., Meng, E., Pixley, K., Trethowan, R., Pena, R.J. (2007). Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *J. Cereal Sci.*, 46: 293-307.
- Oury, F.X, Leenhardt, F., Rémésy, C., Chanliaud, E., Duperrier, B., Balfourier, F., Charmet, G. (2006). Genetic variability and stability of grain magnesium, zinc and iron concentration in bread wheat. *European Journal of Agronomy*, 25: 177–185.
- Ozanne, P.G. (1980). Phosphate nutrition of plants a general treatise. In: Khasawneh F.F, Sample E.C., (eds.). *The Role of Phosphorus in Agriculture*. American Society of Agronomy, Madison, USA. pp. 559-589.
- Ozturk, L., Yazicia, M.A., Yucelb, C., Torun, A., Cekic, C., Bagci, A., Ozkanb, H., Braune, H.J., Sayersa, Z., Cakmak, I. (2006). Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum* , 128(1): 144–152.
- Palmgren, M.G., Clemens, S., Williams, L.E., Krämer, U., Borg, S., Schjørring, J.K., Sanders, D. (2008). Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. *Trends in Plant Science* 13: 464–473.
- Park, S.Y., Birkhole, S.G., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., Ricke, S.C. (2004). Role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity and reproduction. *Biol. Trace Element Res.* 101: 147–163.
- Passarella, V.S., Savin, R., Slafer, G.A. (2002). Grain weight and malting quality in barleys as affected by brief periods of increased spike temperature under field conditions. *Aust. J. Agric. Res.*, 53: 1219-1227.
- Pearson, J.N., Rengel, Z. (1994). Distribution and remobilization of Zn and Mn during grain development in wheat, *J. Exp. Bot.* 45: 1829–1835.
- Pearson, J.N., Rengel, Z. (1995). Uptake and distribution of ⁶⁵Zn and ⁵⁴Mn in wheat grown at sufficient and deficient levels of Zn and Mn. II. During grain development. *J. Expt. Bot.* 46: 841–845.
- Pechin, G.H. (1999). El zinc en la nutrición de los rumiantes. *Ciencia veterinaria. Facultad de ciencias veterinarias. UNL-pam.* 50-79.
- Peck, A.W., McDonald, G.K., Graham, R.D. (2008). Zinc nutrition influences the protein composition of flour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Cereal Sci.*, 47: 266–274.
- Peleg, Z., Saranga, Y., Yazici, A., Fahima, T., Ozturk, I., Cakmak, I. (2008). Grain zinc, iron and protein concentrations and zinc-efficiency in wild emmer wheat under contrasting irrigation regimes. *Plant and Soil*, 306: 57-67.



- Peleg, Z., Cakmak, I., Ozturk, L., Yazici, A., Jun, Y., Budak, H., Korol, A.B., Fahima, T., Saranga, Y. (2009). Quantitative trait loci conferring grain mineral nutrient concentrations in durum wheat wild emmer wheat RIL population. *Theor. Appl. Genet.* 119: 353–369.
- Pendias, A.K., Pendias, H. (1992). *Trace elements in soil and plants* (2nd edition). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 226.
- Peterson, C.J., Johnson, V.A., Mattern, P.J. (1986). Influence of cultivar and environment on mineral and protein concentrations of wheat flour, bran, and grain. *Cereal Chemistry*, 63: 183–186.
- Pettigrew, W.T. (2008). Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiol. Plant.*, 133: 670–681.
- Pfeiffer, W.H., McClafferty, B. (2007). Biofortification: Breeding Micronutrient-Dense Crops. In: Kang MS (Ed) *Breeding major food staples*. Blackwell Science Ltd. (in press).
- Poblaciones, M.J. (2007). *Calidad de trigo harinero en condiciones de secano mediterráneas: influencia del Sistema de laboreo, cultivo precedente y nitrógeno fertilizante*. Tesis doctoral.
- Prasad, R., Shivay, Y.S., Kumar, D. (2013). Zinc Fertilization of Cereals for Increased Production and Alleviation of Zinc Malnutrition in India. *Agric. Res.* 2:111–118.
- Prasad, R. (2010). Zinc biofortification of food grains in relation to food security and alleviation of zinc malnutrition. *Current science*, Vol. 98, No. 10, 25.
- Puig, S., Andrés-Colás, N., García-Molina, A., Peñarrubia, L. (2007). Koper and iron homeostasis in Arabidopsis: responses to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. *Plant, Cell & Environment* 30: 271–290.
- Quiles, A. (2009). Efecto del zinc en la producción porcina. *Mundo ganadero Enero/Febrero 2009*: 58-61.
- Ramakrishnam, U., Manjrekar, R., Rivera, J., Gonzales-Cossio, T., Martorell, R. (1999). Micronutrients and pregnancy outcome: a review of the literature. *Nutrition Research* 19: 103-159.
- Rao, A.C.S., Smith, J.L., Jandhyala, V.K., Papendick, R.I., Parr, J.F. (1993). Cultivar and climatic effects on the protein content of soft White Winter wheat. *Agron. J.* 85: 1023-1028.
- Rangel, E.E., Villaseñor, H.E., Peña, R.J., Huerta, J., Limón, A. (2004). Calidad industrial de trigos harineros para temporal. II. Variabilidad genética y criterios de selección. *Revista fitotecnia mexicana, Enero-Marzo*, 27: 41-47.
- Rascio, A., Russo, M., Mazzucco, L., Platani, C., Nicastro, G., Fonzo, N.D. (2001). Enhanced osmotolerance of a wheat mutant selected for potassium accumulation. *Plant Science*, 160: 441-448.
- Raulin, F., Toupan, G. (1977). The role of sulphur in chemical evolution. *J. Mol. Evol.* 9: 329–338.



- Rawat, N., Tiwari, V.K., Neelam, K., Randhawa, G.S., Chhuneja, P., Singh, K., Dhaliwal, H.S. (2009). Development and characterization of *Triticum aestivum*—*Aegilops kotschy* amphiploids with high grain iron and zinc contents. *Plant Genet. Resour.*, 7: 271–280.
- Real Academia Española de la Lengua (RAE), 2014. <http://lema.rae.es/drae/?val=zinc>.
- Real Decreto 1138/90, de 14 de septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de las aguas potables de consumo público. *BOE* (226): 27488-27497.
- Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. *BOE* (45): 7228-7245.
- Real Decreto 1615/2010, de 7 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad del trigo. *BOE* 301: 102674-102680.
- Reglamento CE 824/2000 de la Comisión Europea, de 19 de abril de 2000, por el que se establecen los procedimientos de aceptación de los cereales por los organismos de intervención y los métodos de análisis para la determinación de la calidad. *DO* 43: 31-50.
- Rengel, Z., Graham, R.D., (1995a). Wheat genotypes differ in zinc efficiency when grown in the chelate-buffered nutrient solution. I. Growth. *Plant Soil*. 176: 307-316.
- Rengel, Z., Graham, R.D. (1995b). Importance of seed zinc content for wheat growth on Zn-deficient soil. I. Vegetative growth. *Plant Soil*. 173: 259-266.
- Rengel, Z., Graham, R.D. (1996). Uptake of zinc from chelatebuffered nutrient solutions by wheat genotypes differing in zinc efficiency. *J. Expt. Bot.* 47: 217-226.
- Rengel, Z., Marschner, H., Römheld, V. (1998). Uptake of zinc and iron by wheat genotype differing in zinc efficiency. *Journal of Plant Physiology*, 152:433-448.
- Rengel, Z., Batten, G.D., Crowley, D.E. (1999). Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops. *Field Crops Res.* 60: 27–40.
- Rengel, Z., Römheld, V. (2000). Differential tolerance to Fe and Zn deficiencies in wheat germplasm. *Euphytica*, 113: 219-225.
- Richards, R.A., Passioura, J.B. (1992). The effect of dwarfing genes in spring wheat in dry environments. I. Agronomic characteristics. *Austr. J. Agric. Res.* 43: 517-527.
- Richards, R.A., Lukacs, Z. (2002). Seedling vigour in wheat-sources of variation for genetic and agronomic improvement. *Aust. J. Agric. Res.*, 53: 41-50.
- Richards, R.A. (1996). Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regul.* 20: 157–166.



- Rigueiro-Rodríguez, A., Mosquera-Losada, M.R., Ferreiro-Domínguez, N. (2012). Pasture and soil zinc evolution in forest and agriculture soils of Northwest Spain three years after fertilisation with sewage sludge. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 150: 111–120.
- Robert, M. (1997). Dégradation de la qualité des sols: risques pour la santé et l'environnement. *Bull Acad. Natle. Med.* 191:21-42.
- Rosa, D.E., Fazzio L.E., Picco, S.J., Furnus, C.C., Mattioli, G.A. (2008). Metabolismo y deficiencia de zinc en bovinos. Laboratorio de nutrición mineral y fisiología reproductiva. Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
- Rubio, C., González Séller, D., Martín-Izquierdo, R.E., Revert, C., Rodríguez, I., Hardisson, A. (2007). El zinc: oligoelemento esencial. *Nutrición Hospitalaria* 22(1): 101-107.
- Russell, G., Wilson, G.W. (1994). An Agri-Pedo-Climatological Knowledge-Base of wheat in Europe. Joint research centre: European Commission, Luxembourg.
- Ruza, A. (2003). Relevance of winter wheat yield and quality formation. Nordic Association of Agricultural Scientists, 22nd Congress, July 1-4-2003, Turku, Finland. 302.
- Ryan, M.H., McInerney, J.K., Record, I.R., Angus, J.F. (2008). Zinc bioavailability in wheat grain in relation to phosphorus fertilizer, crop sequence and mycorrhizal fungi. *J. Sci. Food Agric.* 88(7):1208-1216.
- Sadeghzadeh, B. (2013). A review of zinc nutrition and plant breeding. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13 (4): 905-927.
- Sagardoy, R. (2011). Estudio de la homeostasis de Zinc y Cadmio en plantas superiores. Tesis doctoral.
- Saini, S.P., Gupta, V.K. (2000). Effect of Pb and P on Mn and Fe concentration of wheat grown on texturally different soil. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 48:19–202.
- Salgueiro, M.J., Zubillaga, M.B., Marcela, B., Lysionek, A.E., Caro, R.A., Eng, RW, (2002). The role of zinc in the growth and development of children, *Nutrition* 18: 510–519.
- Saltzman, B., Gross, S., Yeager, D., Meiners, B., Gartside, P. (1990). Total Body burdens and tissue concentrations of lead, cadmium, cooper, zinc and ash in 55 human cadavers. *Environ. Res.* 52: 126-145.
- Sánchez, C., Lopez-Jurado, M., Planells, E., Llopis, J., Aranda, P. (2009) Assessments of iron and zinc intake and related biochemical parameters in an adult Mediterranean population from southern Spain: influence of lifestyle factors. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20: 125-131.
- Sánchez-Monge, E. (1993). Introduction. En: *Plant Breeding. Principles and prospects* M.D. Hayward, M.D., Bosemark, N.O., Romagosa, I. (Eds.), 550 pp. Chapman & Hall. London.



- Savin, R., Nicolás, M.E. (1996). Effects of short periods of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars. *Aust. J. Plant. Physiol.* 23(2): 201-210.
- Serviço de Higiene e Epidemiologia Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Consumo alimentar no Porto. (2006). Disponível em: www.consumoalimentarporto.med.up.pt.
- Sharma, P.N., Chatterjee, C., Agarwala, S.C., Sharma, P. (1990). Zinc deficiency and pollen fertility in maize (*Zea mays*). *Plant and Soil.* 124: 221-225.
- Sharma, B.L., Bapat, P.N. (2000). Levels of micronutrient cations in various parts of wheat and influenced by zinc and phosphorus application. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 48: 130 - 134.
- Shi, R.L., Zhang, Y.Q., Chen, X.P., Sun, Q.P., Zhang, F.S., Römheld, V., Zou, C.Q. (2010). Influence of long-term nitrogen fertilization on micronutrient density in grain of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) *Journal of Cereal Science* 51: 165-170.
- Shuman, L.M. (1998). Micronutrient fertilizers. *Journal of Crop Production* 1: 165–195.
- Silva, P., Pizarro, T., Cortés, P., Morales, B., Acevedo, E. (2012). Las pastas de calidad y el trigo candéal. *Antumapu Revista de Extensión Agropecuaria y Medio Ambiente* 10 (1-2): 23-28.
- Sillanpää, M. (1982). *Micronutrients and the Nutrient Status of Soils: A Global Study*, FAO. Rome, 444 pp.
- Sims, J.T., Johnson, G.V. (1991). Micronutrient soil test. In *Micronutrients in Agriculture*. 2nd ed. Eds. JJ Mordvedt *et al.* pp 427-476, The Soil Science Society of America Book Series n° 4, Soil Science Society of America, Madison, WI. USA.
- Singh, B., Natesan, S.K.A., Singh, B.K., Usha, K. (2005). Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. *Current Science.* 88: 36-44.
- Slafer, G.A., Rawson, H.M. (1994). Does temperature affect final numbers of primordia in wheat? *Field crops research*, 39: 111-117.
- Slafer, G.A., Araus, J.L. (1998). Improving wheat responses to abiotic stresses. In: *Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium.*, 1: 201–213. Slinkard, A.E. Ed. University of Saskatchewan Extension Press, Saskatoon.
- Slafer, G. A. (2003). Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Ann. Appl. Biol.* 142: 117–128.
- Sparrow, D.H., Graham, R.D. (1988). Susceptibility of zincdeficient wheat plants to colonization by *Fusarium graminearum* Schw. Group 1. *Plant Soil* 112: 261-266.
- Starks, T.L., Johnson, P.E. (1985). Techniques for intrinsically labeling wheat with ⁶⁵Zn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33: 691–698.



- Stein, A.J., Nestel, P., Meenakshi, J.V., Qaim, M., Sachdev, H.P.S., Bhutta, Z.A. (2007). Plant breeding to control zinc deficiency in India: how cost-effective is biofortification? *Pub. Health Nutr.* 10: 492–501.
- Stoddard, F.L., Marshall, D.R. (1990). Variability in grain protein in Australia hexaploids wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, 41: 277-288.
- Stone, P.J., Savin, R. (2000). Grain quality and its physiological deternants. In: Satorre, M.H., Slafer, G.A. (Eds.), *Wheat. Ecology and physiology of yield determination*. Foods products press, New York, 85-120.
- Suzuki, M., Takahashi, T., Tsukamoto, T., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Yazaki, J., Kishimoto, N., Kikuchi, S., Nakanishi, H., Mori, S. (2006). Biosynthesis and secretion of mugineic acid family phytosiderophores in zinc-deficient barley. *Plant Journal* 48: 85–97.
- Tacon, A.G.J. (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados: manual de capacitación*. Programa cooperativo gubernamental FAO-Italia.
- Takahashi, M., Terada, Y., Nakai, I., Nakanishi, H., Yoshimura, E., Mori, S., Nishizawa, N.K. (2003). Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development. *The Plant Cell*, 15: 1263-1280.
- Tang, J.W., Zou, C.Q., He, Z.H., Shi, R., Ortiz-Monasterio, I. (2008). Mineral element distributions in milling fractions of Chinese wheats. *J. Cereal Sci.* 48: 821-828.
- Tecator, L.T.D. (1987). Cynadines in waste Waters, doild and sludges using the 1026 distilling unit. Application note an 89/97 and an 86/87, Tecator Ltal, Hoganes, Sweden.
- Terrés, C., Navarro, M., Martín-Lagos, F., Giménez, R., López, H., López, M.C. (2001). Zinc levels in foods from southeastern Spain: relationship to daily dietary intake. *Food Addit. Contam.*, 8: 687-695.
- Thavarajah, D., Thavarajah, P., Wejesuriya, A., Rutzke, M., Glahn, R.P., Combs Jr., G.F., Vandenberg, A. (2011). The potential of lentil (*Lens culinaris* L.) as a whole food for increased selenium, iron, and zinc intake: preliminary results from a 3 year study. *Euphytica* 180:123–128.
- Thongbai, P., Hannam, R.J., Graham, R.D., Webb, M.J., (1993). Interaction between zinc nutritional status of cereals and Rhizoctonia root rot severity. *Plant Soil* 153: 207-214.
- Tiller, K.G. (1983). Micronutrients. Chapter 25 in *Division of Soils, CSIRO. Soils an Australian Viewpoint*. CSIRO/Academic Press, Melbourne, 365-387.
- Tilman, D., Kilham, S. S., Kilham, P. (1982). Phytoplankton community ecology: The role of limiting nutrients. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 13: 349-372.
- Timsida, J., Connor, D.J. (2001). Productivity and management of rice-wheat cropping systems: issues and challenges. *Field crops research*, 69:93-132.



- Tisdale, S.L., Nelson, W.L. (1975). Accounting Principles Fifth Canadian Edition. In: Soil Fertility and Fertilizer, third edn. Vol. 1. McMillan Publishing Company, USA.
- Tiwari, V.K., Rawat, N., Neelam, K., Kumar, S., Randhawa, G.S., Dhaliwal, H.S. (2010). Substitutions of 2S and 7U chromosomes of *Aegilops kotschy* in wheat enhance grain iron and zinc concentrations. *Theor. Appl. Genet.*, 121: 259–269.
- Treeby, M., Marschner, H., Roëmheld, V. (1989). Mobilization of iron and other micronutrient cations from a calcareous soil by plant borne, microbial and synthetic metal chelators. *Plant Soil* 114: 217-226.
- Uauy, C., Distelfeld, A., Fahima, T., Blechl, A., Dubcovsky, J. (2006). A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science* 314: 1298–1301.
- UNFPA-ONU (Informe del estado de la población mundial) (2013). www.unfpa.org.
- United States Department of Agriculture (2006). Keys to Soil Taxonomy. 10th Edition. Natural Resources Conservation Services.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2014a). World production, supply and disappearance of wheat.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2014b). World agricultural supply and demands estimates. WASDE-535: 1-38.
- United States Geological Survey (USGS) (2013). Zinc Statistical Compendium. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/zinc/stat/index.html>.
- Varela, G. (1994). Ingestas recomendadas para la población española. (Departamento de Nutrición, Universidad Complutense, Madrid).
- Vasconcelos, M., Datta, K., Oliva, N., Khalekuzzaman, M., Torrizo, L., Krishnan, S., Oliveira, M., Goto, F., Datta, S.K. (2003). Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. *Plant Science*, 164(3): 371-378.
- Velu, G., Singh, R.P., Huerta-Espino, J., Peña, R.J., Arun, B., Mahendru-Singh, A., Yaqub Mujahid, M., Sohu, V.S., Mavi, G.S., Crossa, J., Alvarado, G., Joshi, A.K., Pfeiffer, W.H. (2012). Performance of biofortified spring wheat genotypes in target environments for grain zinc and iron concentrations. *Fields Crops Res.*, 137: 261-267.
- Velu, G., Ortiz-Monasterio, I., Cakmak, I., Hao, Y., Singh, R.P. (2014). Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *Journal of Cereal Science* 59(3): 1-8.
- Ventura, I. (2009). Bread: preferences and consumption habits. Faculdade de ciencias da nutrição e alimentação da Universidade do Porto.
- Vitkare, D.G., Phadnawis, B.N., Atale, S.B. (1990). Effect of post anthesis ambient temperature on grain filling of early wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) *Ann.Plant Physiol.*, 4: 41-47.



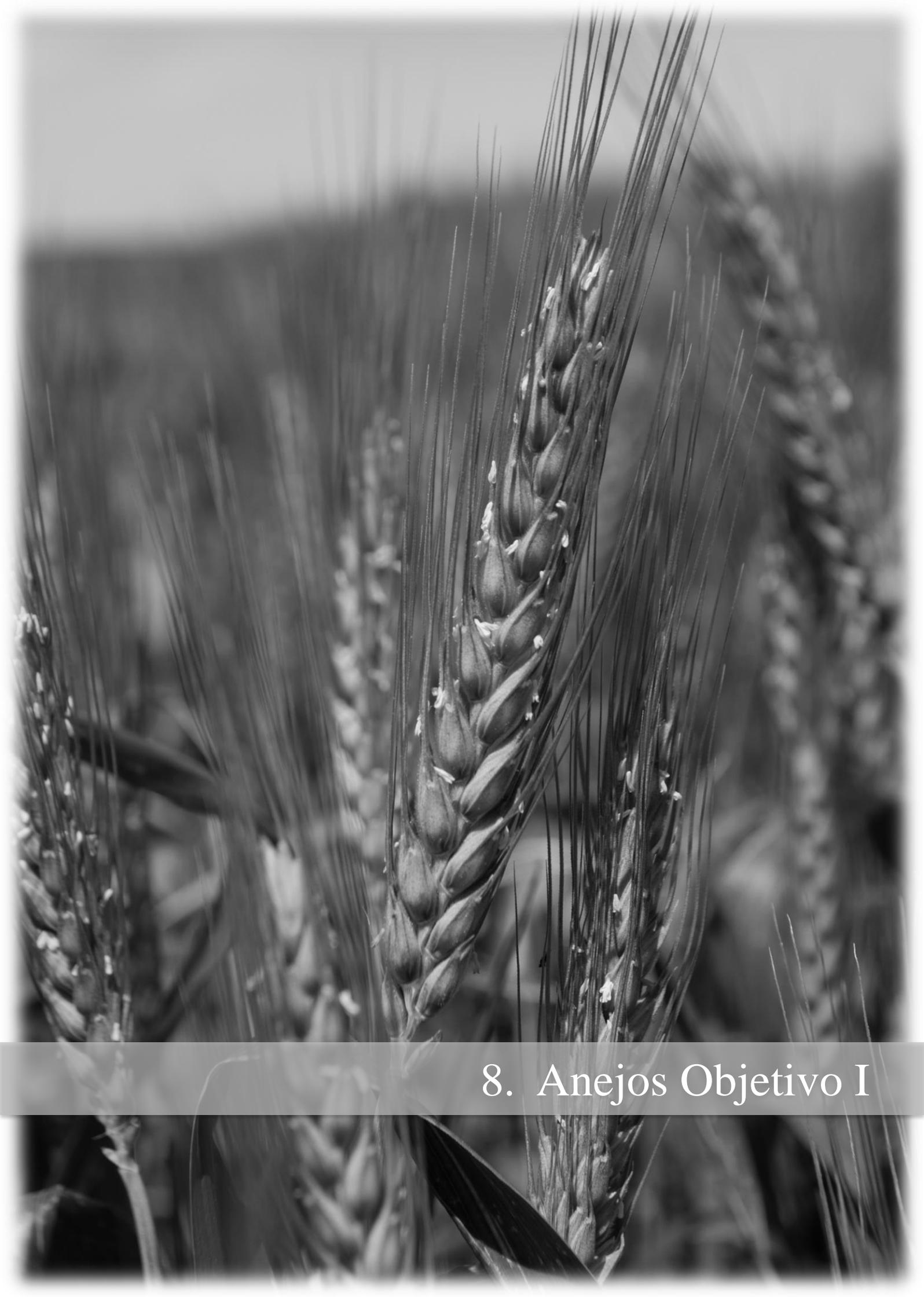
- Von Wiren, N., Klair, S., Bansal, S., Briat, J.F., Khodr, H., Shioiri, T., Leigh, R.A., Hider, R.C. (1999). Nicotianamine chelates both Fe [III] and Fe [II]. Implications for metal transport in plants, *Plant Physiol.* 119: 1107–1114.
- Vreugdenhil, D., Aarts, M.G.M., Koornneef, M. (2005) Exploring natural genetic variation to improve plant nutrient content. In *Plant Nutritional Genomics*. Broadley, M.R. y White, P.J. (eds), 201–219.
- Walker, C.L.F., Black, R.E. (2007). Functional indicators for assessing zinc deficiency. *Food Nutr. Bull.* 23: 454–479.
- Walkley, A., Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 63:251-263.
- Walter, A., Römheld, V., Marschner, H., Mori, S. (1994). Is the release of phytosiderophores in zinc-deficient wheat plants a response to impaired iron utilization? *Physiologia Plantarum*, 92: 493-500.
- Wang, J., Mao H., Zhao, H, Huang, D., Wang, Z. (2012). Different increases in maize and wheat grain zinc concentrations caused by soil and foliar applications of zinc in Loess Plateau, China. *Field Crops Research*, 135: 89–96.
- Wardlaw, I.F., Dawson, I.A., Munibi, P., Fewster, R. (1989). The tolerance of wheat to high temperatures during reproductive growth. I. Survey procedures and general response patterns. *Australian Journal of agricultural research* 40: 1-13.
- Waterlow, J.C., Tomkins, A., Grantham-McGregor, S. M. (1992). Protein-energy malnutrition. London School of Hygiene and Tropical Medicine, University of London, London, UK. 407 pp.
- Waters, B.M., Grusak, M.A. (2008). Whole-plant mineral partitioning throughout the life cycle in *Arabidopsis thaliana* ecotypes Columbia, Landsberg erecta, Cape Verde Islands, and the mutant line *ysl1ysl3*. *New Phytologist*, 177: 389–405.
- Waters, B.M., Sankaran, R.P. (2011). Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Plant Science* 180 (4): 562–574
- Weiss, J. (1996). Trace elements in dairy cattle feeding. *Milchpraxis* 34: 101-103.
- Welch, R.M., Graham, R.D. (2002). Breeding crops for enhanced micronutrient content. *Plant Soil* 245: 205–214.
- Welch, R.M., Graham, R.D. (2004) Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective, *J. Exp. Bot.* 55: 353–364.
- Welch, R.M., Graham, R.D. (2005). Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 299–307.



- Welch, R.M. (1993). Zinc concentrations and forms in plants for humans and animals. In: Robson, A.D. (Ed.), *Zinc in Soil and Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 183-195.
- Welch, R.M. (1995). Micronutrient nutrition of plants. *Critical Reviews in Plant Science* 14: 49–82.
- Welch, R.M. (2001). Micronutrients, agriculture and nutrition; linkages for improved health and well being. pp 247-289 en: *Perspectives on the Micronutrient Nutrition of Crops*. Singh, K., Mori, S., Welch, R.M. (ed). Scientific Publisher: Jodhpur, India.
- Welch, R.M. (2002). Breeding strategies for biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally. *J. Nutr.* 132: 495–499.
- White, P.J., Whiting, S.N., Baker, A.J.M., Broadley, M.R. (2002). Does zinc move apoplastically to the xylem in roots of *Thlaspi caerulescens*? *New Phytologist* 153: 201–207.
- White, P.J., Broadley, M.R. (2003). Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92: 487-511.
- White, P.J., Broadley, M.R. (2005a). Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science* 10: 586–593.
- White, P.J., Broadley, M.R. (2005b). Historical variation in the mineral composition of edible horticultural products. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 80: 660–667.
- White, P.J., Broadley, M.R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol.* 182(1): 49-84.
- Whiting, S.N., Broadley, M.R., White, P.J. (2003). Applying a solute transfer model to phytoextraction: Zinc acquisition by *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil*, 249: 45–56.
- Willis, M.S., Monaghan, S.A., Miller, M.L., McKenna, R.W., Perkins, W.D., Levinson, B.S., Bhushan, V., Kroft, S.H.(2005). Zinc-induced Koper deficiency: a report of three cases initially recognized on bone marrow examination. *Am. J. Clin. Pathol.* 123(1):125-131.
- Wilt, H.D., Carlson, M.S. (2009). Efecto de los suplementos con óxido de Zinc y biotina con o sin carbadox. *Journal of Animal Science* 87: 3253-3258.
- World Health Organization (WHO), Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO) (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*.
- Xi-wen, Y., Xiao-hong, T., Xin-chun, L., William, J.G., Yu-xian, C. (2011). Foliar zinc fertilization improves the zinc nutritional value of wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *African Journal of Biotechnology*. 10(66): 14778-14785.
- Xue, Y.F., Yue, S.C., Zhang, Y.Q., Cui, Z.L., Chen, X.P., Yang, F.C., Cakmak, I., McGrath, S.P., Zhang, F.S., Zou, C.Q. (2012). Grain and shoot zinc accumulation in winter wheat affected by nitrogen management. *Plant and Soil* 361: 153-163.



- Xue, Y.F., Zhang, W., Liu, D.Y., Yue, S.C., Cui, Z.L., Chen, X.P., Zou, C.Q. (2014). Effects of nitrogen management on root morphology and zinc translocation from root to shoot of winter wheat in the field. *Field Crops Research* 161: 38-45.
- Yang Xi-wen, Xiao-hong, T., Lu Xin-chun, L., William, G., Yu-xian, C. (2011). Foliar zinc fertilization improves the zinc nutritional value of wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *African Journal of Biotechnology*, 10(66): 14778-14785.
- Yilmaz, A., Ekiz, H., Torun, B., Gültekin, I., Karanlyak, S., Bagcya, S.A., Cakmak, I. (1997). Effect different zinc application methods on grain yield and zinc concentrations in wheat grown on zinc deficient calcareous soils in Central Anatolia. *J. Plant Nutr.* 20: 461-471.
- Yilmaz, A., Ekiz, H., Gültekin, I., Torun, B., Barut, H., Karanlik, S., Cakmak, I. (1998). Effect of seed zinc content on grain yield and zinc concentration of wheat grown in zinc-deficient calcareous soils. *J. Plant Nutr.*, 21: 2257–2264.
- Zadoks, J.B., Chang, T.T., Konzak, C.F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14: 415–421.
- Zhang, F., Roëmheld, V., Marschner, H. (1989). Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing exudates. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk* 152: 205-210.
- Zhang, Y., Song, Q., Yan, J., Tang, J., Zhao, R., Zhang, Y., He, Z., Zou, C., Ortiz-Monasterio, I. (2010). Mineral element concentrations in grains of Chinese wheat cultivars. *Euphytica*, 174: 303–313.
- Zhang, Y.Q., Sun, Y.X., Ye, Y.L., Karim, M.R., Xue, Y.F., Yan, P., Meng, Q.F., Cui Z.L., Cakmak, I., Zhang, F.S., Zou, C.Q. (2012). Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. *Field crops research.* 125: 1-7.
- Zhao, F.J., McGrath, S.P. (2009). Biofortification and hytoremediation. *Plant Biology*, 12: 373–380.
- Zhao, F.J., Su, Y.H., Dunham, S.J., Rakszegi, M., Bedo, Z., McGrath, S.P., Shewry, P.R. (2009). Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *J. Cereal Sci.* 49: 290–295.
- Zhao, A., Lu, X., Chen, Z., Tian, X., Yang, X. (2011). Zinc fertilization methods on zinc absorption and translocation in wheat. *Journal of Agricultural Science*, 3 (1): 28-35.
- Zhu, C., Naqvi, S., Gómez-Galera, S., Pelacho, A.M., Capell, T., Christou, P. (2007). Transgenic strategies for the nutritional enhancement of plants. *Trends in Plant Science* 12: 548–555.
- Zou, C.Q., Zhang, Y.Q., Rashid, A., Ram, H., Savasli, E., Arisoy, R.Z., Ortiz-Monasterio, I., Simunji, S., Wang, Z.H., Sohu, V., Hassan, M., Kaya, Y., Onder, O., Lungu, O., Yaqub Mujahid, M., Joshi, A.K., Zelenskiy, Y., Zhang, F.S., Cakmak, I. (2012). Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. *Plant and Soil*, 361: 119-130.



8. Anejos Objetivo I



Tabla I. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre el número de días a espigado (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Días a espigado								
	2010/11			2012/13			Año medio		
	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media
INIAV-1	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	114 \pm 1	113 \pm 1	114\pm1AB	103 \pm 6	103 \pm 7	103\pm3A
INIAV-2	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	116 \pm 1	114 \pm 2	115\pm1A	103 \pm 6	103 \pm 7	103\pm4A
INIAV-3	93 \pm 1	92 \pm 1	93\pm1A	113 \pm 1	111 \pm 1	112\pm1BCD	104 \pm 5	102 \pm 8	102\pm3BCD
INIAV-4	92 \pm 1	93 \pm 1	92\pm1AB	112 \pm 1	112 \pm 1	112\pm1BCD	102 \pm 5	102 \pm 7	102\pm3BCD
INIAV-5	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	111 \pm 1	113 \pm 1	112\pm1BCD	102 \pm 5	103 \pm 8	102\pm3BCD
INIAV-6	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	112 \pm 1	111 \pm 1	112\pm1BCD	102 \pm 5	102 \pm 8	102\pm3BCD
INIAV-7	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	110 \pm 1	110 \pm 2	110\pm1E	101 \pm 5	101 \pm 8	101\pm3E
INIAV-8	91 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	112 \pm 1	112 \pm 2	112\pm1BCD	102 \pm 5	102 \pm 7	102\pm3BCD
INIAV-9	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	112 \pm 1	111 \pm 1	112\pm1BCD	102 \pm 5	102 \pm 7	102\pm3BCD
INIAV-10	92 \pm 1	91 \pm 1	91\pm1B	112 \pm 1	112 \pm 1	112\pm1BCD	102 \pm 5	102 \pm 7	102\pm3BCD
Ardila	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	111 \pm 1	110 \pm 2	111\pm1DE	101 \pm 5	102 \pm 8	102\pm3BCD
Nabão	91 \pm 1	92 \pm 1	91\pm1AB	114 \pm 1	115 \pm 1	115\pm1A	103 \pm 6	104 \pm 7	103\pm4A
Roxo	92 \pm 1	92 \pm 1	92\pm1AB	114 \pm 1	111 \pm 1	112\pm1BCD	102 \pm 6	101 \pm 8	102\pm3BCD
Media	92\pm1	92\pm1	92\pm1β	112\pm1	112\pm1	112\pm1α	102\pm1	102\pm1	

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla II. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre el número de días a antesis (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Días antesis								
	2010/11			2012/13			Año medio		
	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media
INIAV-1	98 \pm 1	98 \pm 1	98\pm1A	127 \pm 1	128 \pm 1	128\pm1A	113 \pm 7	113 \pm 7	113\pm5A
INIAV-2	98 \pm 1	96 \pm 1	97\pm1ABC	126 \pm 1	126 \pm 1	126\pm1EF	112 \pm 7	111 \pm 7	112\pm5BC
INIAV-3	97 \pm 1	95 \pm 1	96\pm1BC	128 \pm 1	127 \pm 1	127\pm1BC	113 \pm 8	111 \pm 8	112\pm5BC
INIAV-4	97 \pm 1	96 \pm 1	97\pm1ABC	126 \pm 1	126 \pm 1	126\pm1EF	112 \pm 7	111 \pm 7	111\pm5C
INIAV-5	96 \pm 1	96 \pm 1	96\pm1BC	128 \pm 1	128 \pm 1	128\pm1A	112 \pm 8	111 \pm 8	112\pm5BC
INIAV-6	97 \pm 1	96 \pm 1	97\pm1ABC	127 \pm 1	127 \pm 1	127\pm1BC	112 \pm 7	111 \pm 8	112\pm5BC
INIAV-7	95 \pm 1	95 \pm 1	95\pm1C	127 \pm 1	126 \pm 1	125\pm1F	111 \pm 8	111 \pm 8	111\pm5D
INIAV-8	98 \pm 1	97 \pm 1	98\pm1AB	127 \pm 1	127 \pm 1	127\pm1BC	112 \pm 7	112 \pm 7	112\pm5BC
INIAV-9	96 \pm 1	98 \pm 1	97\pm1ABC	127 \pm 1	127 \pm 1	127\pm1BC	112 \pm 8	112 \pm 7	112\pm5BC
INIAV-10	97 \pm 1	97 \pm 1	97\pm1ABC	127 \pm 1	126 \pm 1	126\pm1EF	112 \pm 7	112 \pm 7	112\pm5BC
Ardila	96 \pm 1	96 \pm 1	96\pm1BC	128 \pm 1	128 \pm 1	128\pm1A	112 \pm 8	112 \pm 8	112\pm5BC
Nabão	97 \pm 1	97 \pm 1	97\pm1ABC	126 \pm 1	126 \pm 1	125\pm1F	112 \pm 7	112 \pm 7	112\pm5BC
Roxo	96 \pm 1	96 \pm 1	96\pm1BC	127 \pm 1	127 \pm 1	127\pm1BC	111 \pm 8	111 \pm 8	111\pm5BCD
Media	97\pm1	96\pm1	97\pm1β	127\pm0	127\pm0	127\pm1α	112\pm2	112\pm2	

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla III. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre el número de días a grano lechoso (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Días a grano lechoso								
	2010/11			2012/13			Año medio		
	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media
INIAV-1	102 \pm 1	102 \pm 1	102\pm1BCD	133 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	118 \pm 8	118 \pm 8	118\pm5BCD
INIAV-2	100 \pm 2	100 \pm 2	100\pm1DE	133 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	117 \pm 8	117 \pm 8	117\pm5DEF
INIAV-3	103 \pm 2	103 \pm 2	103\pm1ABC	134 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	119 \pm 8	119 \pm 8	118\pm5BCD
INIAV-4	104 \pm 2	104 \pm 2	104\pm1AB	134 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	119 \pm 7	119 \pm 7	119\pm5ABC
INIAV-5	105 \pm 1	105 \pm 1	105\pm1A	136 \pm 1	135 \pm 1	135\pm1A	120 \pm 8	120 \pm 7	120\pm5A
INIAV-6	104 \pm 1	104 \pm 1	104\pm1AB	133 \pm 1	135 \pm 1	134\pm1BC	119 \pm 7	119 \pm 8	119\pm5ABC
INIAV-7	100 \pm 1	100 \pm 1	100\pm1DE	133 \pm 1	133 \pm 1	133\pm1C	117 \pm 8	116 \pm 8	117\pm5DEF
INIAV-8	100 \pm 1	100 \pm 1	100\pm1DE	133 \pm 1	135 \pm 1	134\pm1BC	117 \pm 8	117 \pm 8	117\pm5DEF
INIAV-9	98 \pm 1	98 \pm 1	98\pm1E	134 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	116 \pm 9	116 \pm 9	116\pm5F
INIAV-10	101 \pm 1	101 \pm 1	101\pm1CD	133 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	117 \pm 8	118 \pm 8	117\pm5DEF
Ardila	103 \pm 1	103 \pm 1	103\pm1ABC	133 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	118 \pm 7	119 \pm 8	118\pm5BCD
Nabão	105 \pm 1	105 \pm 1	105\pm1A	133 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	119 \pm 7	120 \pm 7	119\pm5ABC
Roxo	102 \pm 1	102 \pm 1	102\pm1BCD	135 \pm 1	134 \pm 1	134\pm1BC	119 \pm 8	118 \pm 8	118\pm5BCD
Media	102\pm1	102\pm1	102\pm1β	134\pm1	134\pm1	134\pm1α	118\pm2	118\pm2	

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla IV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo y Media), sobre la altura de las plantas (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Altura (cm)								
	2010/11			2012/13			Año medio		
	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media	Control	Suelo	Media
INIAV-1	85,3 \pm 1,6	89,7 \pm 1,8	87,5\pm1,4A	101,7 \pm 1,1	104,0 \pm 1,4	102,8\pm0,9A	93,5 \pm 4	96,8 \pm 4	95,2\pm2,5A
INIAV-2	62,7 \pm 2,2	75,0 \pm 1,9	68,8\pm3,2EF	89,7 \pm 0,8	92,7 \pm 0,8	91,2\pm0,9CD	76,2 \pm 7	83,8 \pm 4	80,0\pm2,4EF
INIAV-3	72,3 \pm 3,3	81,0 \pm 5,1	76,7\pm3,2BC	100,3 \pm 0,8	100,0 \pm 2,1	100,2\pm0,9A	86,3 \pm 7	90,5 \pm 5	88,4\pm4,0B
INIAV-4	61,0 \pm 3,2	73,0 \pm 3,9	67,0\pm3,6F	87,0 \pm 0,4	89,0 \pm 3,5	93,8\pm1,5BC	76,8 \pm 8	84,0 \pm 6	80,4\pm4,6EF
INIAV-5	71,0 \pm 3,2	73,0 \pm 2,4	72,0\pm1,7CDE	92,7 \pm 3,3	95,0 \pm 1,6	91,0\pm1,5CD	80,7 \pm 5	82,3 \pm 5	81,5\pm3,2E
INIAV-6	65,0 \pm 3,9	70,7 \pm 2,2	67,8\pm2,3EF	90,3 \pm 1,5	91,7 \pm 2,9	94,5\pm1,3B	79,8 \pm 7	82,5 \pm 6	81,2\pm4,4E
INIAV-7	74,3 \pm 2,2	74,7 \pm 0,4	74,5\pm3,1CD	94,7 \pm 0,7	94,3 \pm 3,6	88,2\pm1,4D	81,7 \pm 5	81,0 \pm 3	81,3\pm2,7E
INIAV-8	74,3 \pm 4,3	75,3 \pm 2,9	74,0\pm1,4CD	89,0 \pm 3,6	87,3 \pm 2,5	95,0\pm1,9B	83,0 \pm 5	86,0 \pm 5	84,5\pm3,5CD
INIAV-9	73,0 \pm 2,9	79,7 \pm 2,9	76,3\pm2,2BC	91,3 \pm 2,3	92,7 \pm 1,2	93,2\pm1,4BC	82,7 \pm 5	86,3 \pm 4	84,8\pm2,9C
INIAV-10	78,3 \pm 4,4	81,0 \pm 4,4	79,7\pm2,3B	93,3 \pm 1,1	96,7 \pm 2,4	93,3\pm0,7BC	86,0 \pm 4	87,0 \pm 3	86,5\pm3,8BC
Ardila	64,7 \pm 1,1	70,0 \pm 0,1	67,3\pm1,4EF	92,3 \pm 0,7	94,0 \pm 1,8	88,0\pm1,1D	75,8 \pm 5	79,5 \pm 5	77,7\pm3,4F
Nabão	65,3 \pm 0,4	76,3 \pm 4,3	70,3\pm3,2DEF	93,7 \pm 2,9	93,0 \pm 3,2	92,0\pm1,4BC	78,3 \pm 6	84,5 \pm 4	81,4\pm3,7E
Roxo	67,3 \pm 3,3	74,7 \pm 0,4	71,0\pm2,6DEF	93,7 \pm 2,9	91,7 \pm 4,1	92,7\pm2,1BC	80,5 \pm 7	83,2 \pm 4	81,8\pm3,7DE
Media	70,2\pm1,3b	76,5\pm1,0a	73,3\pm0,9β	93,1\pm0,8	94,0\pm0,8	93,5\pm0,6α	81,6\pm1,5b	85,2\pm1,2a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.

Tabla V. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media) sobre la producción de grano (media ± error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Producción grano (kg ha ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	2341±127	3370±199	2278±94	2796±232	2696±151A	3702±29AB	3494±86C	3658±57B	3480±254B	3583±59CD	3022±285bA	3432±78aA	2968±288bAB	3138±83aAB	3140±122A
INIAV-2	1705±200	2526±83	1964±106	2700±87	2224±136CD	3817±250AB	4018±42AB	4082±90A	3730±224AB	3912±78A	2762±451bB	3272±310aAB	3023±441aA	3215±228aA	3068±95AB
INIAV-3	1810±261	2078±177	1517±317	1770±98	1794±104E	3427±71bB	4196±182aA	3297±109bBC	3593±203bB	3628±121CD	2619±34b7B	3137±447aAB	2407±386bBC	2681±385bB	2711±210DE
INIAV-4	1491±71	1816±354	1663±76	1902±375	1719±108E	2563±158cC	3485±114aC	3207±54bC	3794±330aA	3262±159E	2027±229cC	2651±368aC	2435±321bBC	2848±426aB	2490±188F
INIAV-5	2207±178	2464±212	1784±169	2398±349	2213±120D	3492±310B	3938±171AB	3510±62BC	3536±397B	3619±113CD	2850±92bB	3201±319aAB	2647±363bBC	2967±96aAB	2916±169BC
INIAV-6	2461±286	2601±95	1969±97	2402±166	2359±99CD	3956±59aA	4084±81aAB	3427±228bBC	3480±264bB	3737±92ABC	3209±325aA	3343±310aAB	2698±313bBC	2941±247bAB	3048±164AB
INIAV-7	1875±50	1847±209	1769±71	1714±170	1801±55E	3739±33AB	3750±222BC	3464±282BC	3564±164B	3629±81CD	2807±386B	2799±407BC	2617±365BC	2639±391B	2715±200DE
INIAV-8	1663±63	2168±167	1771±82	1720±14	1830±72E	3569±22aAB	3586±24a8C	2910±239bC	3920±286aA	3496±141D	2616±95aB	2877±311aBC	2341±251bC	2820±466aB	2664±193E
INIAV-9	2556±130	2789±315	2237±255	2224±183	2451±112BC	3841±175aA	3833±277aABC	2952±204bC	3694±334aAB	3579±148CD	3198±276aA	3311±259aAB	2594±185bBC	2959±330bA	3016±150AB
INIAV-10	1748±333	2146±221	1604±321	1923±143	1855±116E	3663±47AB	4032±164AB	3610±151B	4042±218A	3837±86AB	2706±412bB	3089±402aB	2607±432bBC	2983±448aA	2846±222CD
Ardila	2030±234	2900±190	1753±78	2523±145	2302±153CD	3555±26B	3880±327ABC	3596±172BC	3774±48AB	3701±93BC	2793±337bB	3390±240aAB	2675±387bB	3149±264aA	3002±172AB
Nabão	2441±268	3205±144	2309±139	2553±49	2627±125AB	2873±151bC	3246±160aC	2667±151bC	3389±161aB	3044±107F	2657±137bB	3226±73aAB	2488±101bBC	2971±182aA	2835±90CD
Roxo	1804±289	2194±288	1730±72	1964±96	1923±116E	3266±160bBC	3981±34aABC	3186±182bC	3872±457aA	3576±146CD	2535±322bB	3088±383aB	2459±332bBC	2918±425aAB	2750±19DE
Media	2010±69c	2470±88a	1873±56c	2199±71b	2138±34β	3497±70bc	3809±56a	3351±67c	3682±61ab	3585±39α	2754±98c	3140±93a	2612±95c	2941±97b	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla VI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el peso de mil granos (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Peso 1000 granos (g)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	38,2 \pm 1,4	38,2 \pm 0,8	37,4 \pm 0,9	36,7 \pm 1,6	37,6\pm0,5CD	41,5 \pm 0,1	41,3 \pm 0,1	42,7 \pm 0,3	42,1 \pm 0,3	41,9\pm0,1C	39,9 \pm 1,0	39,7 \pm 0,9	40,0 \pm 1,4	39,4 \pm 1,5	39,7\pm0,5C
INIAV-2	34,1 \pm 1,7	34,7 \pm 1,4	35,6 \pm 0,8	37,6 \pm 0,5	35,5\pm0,6EFG	42,2 \pm 0,3	42,8 \pm 0,1	41,4 \pm 0,2	41,6 \pm 0,5	42,0\pm0,1C	38,2 \pm 2,1	38,8 \pm 2,1	38,5 \pm 1,5	39,6 \pm 1,0	38,7\pm0,8DE
INIAV-3	39,7 \pm 0,5	39,8 \pm 0,8	42,0 \pm 0,8	40,4 \pm 1,0	40,5\pm0,4B	41,0 \pm 0,5	42,4 \pm 0,6	40,3 \pm 0,2	40,2 \pm 0,8	41,0\pm0,2D	40,3 \pm 0,6	41,1 \pm 0,7	41,2 \pm 0,7	40,3 \pm 0,5	40,7\pm0,3B
INIAV-4	29,3 \pm 1,5	30,7 \pm 1,3	30,8 \pm 1,1	34,2 \pm 1,1	31,3\pm0,7H	39,8 \pm 0,2	38,8 \pm 0,1	39,1 \pm 0,2	38,5 \pm 0,5	39,1\pm0,1E	34,6 \pm 2,7	34,8 \pm 2,0	34,9 \pm 2,1	36,4 \pm 1,2	35,2\pm0,9H
INIAV-5	29,6 \pm 0,3	28,6 \pm 0,5	32,2 \pm 0,1	30,5 \pm 1,1	30,3\pm0,5H	37,4 \pm 0,1	37,7 \pm 0,4	37,9 \pm 0,1	36,8 \pm 0,6	37,5\pm0,2G	33,5 \pm 1,9	33,2 \pm 2,3	35,1 \pm 1,4	33,7 \pm 1,6	33,9\pm0,8I
INIAV-6	37,7 \pm 1,0	35,8 \pm 0,6	36,7 \pm 2,0	37,5 \pm 1,9	36,9\pm0,6DE	41,5 \pm 0,1	41,2 \pm 0,5	41,1 \pm 0,5	40,2 \pm 0,5	41,0\pm0,2D	39,6 \pm 1,0	38,5 \pm 1,4	38,9 \pm 1,3	38,9 \pm 1,0	39,0\pm0,5CD
INIAV-7	39,6 \pm 0,7	37,2 \pm 1,4	41,1 \pm 0,3	38,1 \pm 0,7	39,0\pm0,6BC	42,2 \pm 0,5	45,8 \pm 0,5	44,9 \pm 0,2	43,4 \pm 0,7	44,1\pm0,2B	40,9 \pm 0,8	41,5 \pm 2,2	43,0 \pm 1,0	40,7 \pm 1,4	41,5\pm0,7B
INIAV-8	35,9 \pm 1,0	36,1 \pm 0,3	37,8 \pm 1,2	37,8 \pm 0,6	36,9\pm0,4DE	38,5 \pm 0,2	38,3 \pm 0,1	38,3 \pm 0,1	36,0 \pm 0,5	37,8\pm0,2FG	37,2 \pm 0,9	37,2 \pm 0,6	38,1 \pm 0,5	36,9 \pm 0,7	37,3\pm0,3FG
INIAV-9	44,4 \pm 2,6	40,2 \pm 2,4	43,8 \pm 2,0	41,2 \pm 1,6	42,4\pm1,0A	46,7 \pm 0,5	46,5 \pm 0,3	45,0 \pm 0,5	44,7 \pm 0,0	45,7\pm0,2A	45,6 \pm 1,2	43,4 \pm 1,8	44,4 \pm 1,0	42,9 \pm 1,2	44,1\pm0,6A
INIAV-10	34,5 \pm 2,4	35,4 \pm 0,6	34,3 \pm 0,7	36,5 \pm 0,9	35,2\pm0,6FG	38,3 \pm 0,3	40,0 \pm 0,3	38,7 \pm 0,2	37,5 \pm 0,4	38,6\pm0,2EF	36,4 \pm 1,4	37,7 \pm 1,2	36,5 \pm 1,2	37,0 \pm 0,6	36,9\pm0,5G
Ardila	35,1 \pm 0,6	35,4 \pm 0,4	36,3 \pm 0,8	38,6 \pm 1,0	36,3\pm0,5DEF	40,3 \pm 0,3	38,9 \pm 0,3	38,7 \pm 0,2	39,0 \pm 0,2	39,2\pm0,1E	37,7 \pm 1,4	37,1 \pm 0,9	37,5 \pm 0,7	38,8 \pm 0,5	37,8\pm0,4FG
Nabão	28,8 \pm 1,9	30,2 \pm 3,5	28,4 \pm 0,7	27,3 \pm 1,5	28,7\pm0,9I	32,7 \pm 0,5	32,1 \pm 0,2	31,4 \pm 0,4	31,7 \pm 0,4	32,0\pm0,1H	30,8 \pm 1,3	31,1 \pm 1,5	29,9 \pm 0,8	29,6 \pm 1,3	30,3\pm0,6J
Roxo	33,8 \pm 1,7	35,2 \pm 0,8	34,8 \pm 1,7	34,6 \pm 1,1	34,6\pm0,5G	41,5 \pm 0,1	42,2 \pm 0,3	41,3 \pm 0,4	39,7 \pm 0,3	41,2\pm0,1CD	37,7 \pm 2,1	38,7 \pm 1,8	38,1 \pm 1,8	37,1 \pm 1,3	37,9\pm0,8EF
Media	35,4\pm0,8ab	35,2\pm0,6b	36,2\pm0,7a	36,2\pm0,6a	35,8\pm0,3β	40,3\pm0,5a	40,6\pm0,6a	40,1\pm0,6a	39,3\pm0,6b	40,1\pm0,3α	37,9\pm0,5	37,9\pm0,5	38,1\pm0,5	37,8\pm0,5	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla VII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el peso hectólitro (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Peso hl (kg hl ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	77,3 \pm 0,9	79,2 \pm 0,4	77,6 \pm 0,3	79,6 \pm 0,3	78,4\pm0,4AB	84,4 \pm 0,1	84,6 \pm 0,1	84,5 \pm 0,3	84,2 \pm 0,3	84,4\pm0,1BC	80,9 \pm 1,8	81,9 \pm 1,3	81,1 \pm 1,7	81,9 \pm 1,1	81,4\pm0,7A
INIAV-2	74,9 \pm 0,7	74,9 \pm 3,7	76,7 \pm 0,2	74,8 \pm 1,7	75,3\pm0,8DEFG	82,9 \pm 0,3	83,2 \pm 0,1	83,0 \pm 0,2	82,6 \pm 0,5	82,9\pm0,1F	78,9 \pm 1,6	79,1 \pm 2,5	79,9 \pm 1,6	78,7 \pm 2,0	79,1\pm0,9BCD
INIAV-3	72,3 \pm 2,1	74,9 \pm 3,3	74,8 \pm 1,1	77,0 \pm 0,5	74,7\pm0,9EFG	83,7 \pm 0,5	84,0 \pm 0,6	82,9 \pm 0,2	83,3 \pm 0,8	83,5\pm0,2E	78,0 \pm 2,0	79,4 \pm 2,6	78,9 \pm 2,0	80,1 \pm 1,6	79,1\pm1,0BCD
INIAV-4	75,4 \pm 0,5	76,4 \pm 1,3	77,5 \pm 0,6	77,8 \pm 0,8	76,8\pm0,4BCDE	83,0 \pm 0,2	82,7 \pm 0,1	82,8 \pm 0,2	83,2 \pm 0,5	82,9\pm0,1F	79,2 \pm 1,3	79,5 \pm 1,6	80,1 \pm 1,3	80,5 \pm 1,4	79,8\pm0,7BC
INIAV-5	77,9 \pm 0,7	76,0 \pm 1,3	78,1 \pm 0,8	77,6 \pm 0,4	77,4\pm0,4ABCD	84,8 \pm 0,1	84,9 \pm 0,4	84,3 \pm 0,1	84,9 \pm 0,6	84,7\pm0,1B	81,4 \pm 1,6	80,5 \pm 2,2	81,2 \pm 1,6	81,2 \pm 1,8	81,1\pm0,8A
INIAV-6	70,4 \pm 4,1	77,8 \pm 3,3	73,9 \pm 5,5	78,4 \pm 1,4	75,1\pm1,7EFG	84,9 \pm 0,1	84,7 \pm 0,5	84,2 \pm 0,5	84,3 \pm 0,5	84,5\pm0,2BC	77,6 \pm 3,4	81,2 \pm 2,1	79,1 \pm 3,4	81,4 \pm 1,6	79,8\pm1,3BC
INIAV-7	75,5 \pm 1,3	76,7 \pm 2,0	75,4 \pm 2,4	76,4 \pm 0,7	76,0\pm0,7CDEF	81,8 \pm 0,5	82,4 \pm 0,5	82,2 \pm 0,2	81,2 \pm 0,7	81,9\pm0,2G	78,7 \pm 1,9	79,5 \pm 1,6	78,8 \pm 1,9	78,8 \pm 1,2	79,0\pm0,7CDE
INIAV-8	73,3 \pm 1,5	74,2 \pm 2,1	71,7 \pm 1,6	75,3 \pm 0,8	73,6\pm0,7G	83,3 \pm 0,2	83,3 \pm 0,1	82,9 \pm 0,1	82,5 \pm 0,5	83,0\pm0,1F	78,3 \pm 2,8	78,7 \pm 2,4	77,3 \pm 2,8	78,9 \pm 1,8	78,3\pm1,1DE
INIAV-9	73,0 \pm 0,6	75,1 \pm 0,8	71,7 \pm 2,9	75,8 \pm 0,7	73,9\pm0,8G	82,4 \pm 0,5	82,7 \pm 0,3	82,0 \pm 0,5	81,9 \pm 0,0	82,3\pm0,2G	77,7 \pm 2,8	78,9 \pm 1,9	76,8 \pm 2,8	78,8 \pm 1,5	78,1\pm1,0E
INIAV-10	76,2 \pm 1,4	74,1 \pm 0,6	77,2 \pm 3,0	76,9 \pm 0,9	76,1\pm0,9CDEF	84,0 \pm 0,3	84,5 \pm 0,3	83,6 \pm 0,2	83,7 \pm 0,4	83,9\pm0,2D	80,1 \pm 1,6	79,3 \pm 3,0	80,4 \pm 1,6	80,3 \pm 1,8	80,0\pm0,9B
Ardila	71,8 \pm 0,4	75,3 \pm 4,1	74,2 \pm 0,8	76,8 \pm 1,3	74,5\pm0,9FG	84,7 \pm 0,3	84,8 \pm 0,3	84,5 \pm 0,2	84,5 \pm 0,2	84,6\pm0,1BC	78,2 \pm 2,8	80,0 \pm 2,3	79,4 \pm 2,8	80,6 \pm 1,9	79,6\pm1,2BC
Nabão	79,9 \pm 1,2	78,1 \pm 2,9	79,6 \pm 1,1	79,2 \pm 0,4	79,2\pm0,6A	84,5 \pm 0,5	84,4 \pm 0,2	84,3 \pm 0,4	84,2 \pm 0,4	84,3\pm0,1C	82,2 \pm 1,2	81,3 \pm 1,9	81,9 \pm 1,2	81,7 \pm 1,2	81,8\pm0,6A
Roxo	75,9 \pm 3,2	79,3 \pm 0,3	77,2 \pm 2,3	79,1 \pm 0,6	77,9\pm0,9ABC	85,7 \pm 0,1	85,6 \pm 0,3	85,5 \pm 0,4	85,0 \pm 0,3	85,4\pm0,1A	80,8 \pm 2,2	82,5 \pm 1,5	81,3 \pm 2,2	82,0 \pm 1,5	81,7\pm0,9A
Media	74,9\pm0,5b	76,3\pm0,5ab	75,8\pm0,6ab	77,3\pm0,3a	76,1\pm0,3β	83,9\pm0,2	84,0\pm0,2	83,6\pm0,2	83,5\pm0,2	83,7\pm0,1α	79,4\pm0,6b	80,1\pm0,5a	79,7\pm0,5ab	80,4\pm0,4a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla VIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido proteico (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Proteína (%)														
	2010/11					2012/13					Media				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	14,0 \pm 0,4	15,1 \pm 1,0	13,9 \pm 0,7	14,1 \pm 1,3	14,4\pm0,4B	9,5 \pm 0,1	9,8 \pm 0,2	10,0 \pm 0,2	9,7 \pm 0,4	9,7\pm0,1BC	12,1 \pm 1,3	12,4 \pm 1,4	12,0 \pm 1,0	11,9 \pm 1,2	12,1\pm0,5CD
INIAV-2	14,0 \pm 0,2	15,5 \pm 0,7	13,5 \pm 0,5	13,8 \pm 0,8	14,2\pm0,3B	10,4 \pm 0,4	10,2 \pm 0,6	9,9 \pm 0,4	9,8 \pm 0,8	10,1\pm0,2AB	12,2 \pm 0,9	12,8 \pm 1,3	11,7 \pm 0,9	11,8 \pm 1,1	12,1\pm0,5CD
INIAV-3	14,2 \pm 0,3	15,6 \pm 0,7	14,3 \pm 1,0	13,8 \pm 0,6	14,5\pm0,3B	9,7 \pm 0,6	9,3 \pm 0,4	9,7 \pm 0,2	9,0 \pm 0,8	9,4\pm0,2CD	12,0 \pm 1,1	12,5 \pm 1,6	12,0 \pm 1,2	11,4 \pm 1,3	11,9\pm0,6DE
INIAV-4	15,5 \pm 0,4	14,0 \pm 0,7	13,9 \pm 0,5	13,3 \pm 0,5	14,2\pm0,3B	8,8 \pm 0,3	8,6 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	9,1 \pm 0,5	8,7\pm0,1F	12,2 \pm 1,7	11,3 \pm 1,4	11,2 \pm 1,4	11,2 \pm 1,1	11,5\pm0,6F
INIAV-5	14,3 \pm 0,5	14,6 \pm 1,4	13,7 \pm 0,7	13,5 \pm 1,3	14,0\pm0,4B	9,1 \pm 0,4	9,1 \pm 0,4	8,7 \pm 0,5	9,4 \pm 0,9	9,1\pm0,2DEF	11,7 \pm 1,3	11,8 \pm 1,5	11,2 \pm 1,3	11,4 \pm 1,2	11,5\pm0,6EF
INIAV-6	14,7 \pm 0,6	16,7 \pm 0,4	15,1 \pm 0,4	15,7 \pm 1,1	15,5\pm0,3A	9,8 \pm 0,3	9,1 \pm 0,6	9,2 \pm 0,4	9,6 \pm 0,9	9,4\pm0,2CD	12,2 \pm 1,2	12,8 \pm 1,9	12,2 \pm 1,5	12,6 \pm 1,6	12,5\pm0,7BC
INIAV-7	14,3 \pm 0,4	14,6 \pm 1,0	13,7 \pm 0,2	13,3 \pm 1,5	14,0\pm0,4B	9,1 \pm 0,0	9,1 \pm 0,4	9,1 \pm 0,2	9,5 \pm 0,7	9,2\pm0,2DE	11,7 \pm 1,3	11,9 \pm 1,4	11,4 \pm 1,1	11,4 \pm 1,1	11,6\pm0,5EF
INIAV-8	14,9 \pm 0,3	15,3 \pm 0,4	14,5 \pm 0,1	13,5 \pm 0,9	14,6\pm0,3B	8,7 \pm 0,2	8,4 \pm 0,2	8,4 \pm 0,1	9,0 \pm 0,3	8,6\pm0,1F	11,8 \pm 1,5	11,8 \pm 1,7	11,5 \pm 1,5	11,3 \pm 1,2	11,6\pm0,6EF
INIAV-9	14,8 \pm 0,6	14,8 \pm 0,2	14,7 \pm 0,5	14,6 \pm 0,3	14,7\pm0,2B	9,1 \pm 0,5	8,8 \pm 0,7	9,1 \pm 0,5	9,1 \pm 0,5	9,0\pm0,2DEF	12,0 \pm 1,4	11,8 \pm 1,5	11,9 \pm 1,4	11,9 \pm 1,4	11,9\pm0,6DEF
INIAV-10	14,8 \pm 0,5	14,3 \pm 0,5	14,6 \pm 0,6	13,5 \pm 0,9	14,3\pm0,3B	8,8 \pm 0,5	8,7 \pm 0,5	8,5 \pm 0,4	9,6 \pm 0,2	8,9\pm0,2EF	11,8 \pm 1,5	11,5 \pm 1,4	11,6 \pm 1,5	11,6 \pm 1,0	11,6\pm0,6EF
Ardila	15,8 \pm 0,5	15,7 \pm 0,4	16,0 \pm 0,2	15,7 \pm 1,2	15,8\pm0,3A	10,2 \pm 0,6	9,3 \pm 0,4	9,4 \pm 0,1	9,8 \pm 0,3	9,7\pm0,2BC	13,0 \pm 1,4	12,5 \pm 1,6	12,7 \pm 1,6	12,8 \pm 1,5	12,7\pm0,7AB
Nabão	13,9 \pm 0,2	14,1 \pm 0,9	14,8 \pm 0,8	13,4 \pm 0,5	14,1\pm0,3B	10,2 \pm 0,1	9,9 \pm 0,2	10,3 \pm 0,5	10,0 \pm 0,3	10,1\pm0,1AB	12,1 \pm 0,9	12,0 \pm 1,1	12,5 \pm 1,2	11,7 \pm 0,9	12,1\pm0,4CD
Roxo	16,0 \pm 0,4	16,1 \pm 0,6	16,0 \pm 0,7	15,6 \pm 1,4	15,9\pm0,3A	11,1 \pm 1,0	9,8 \pm 0,1	10,1 \pm 0,5	10,7 \pm 0,5	10,4\pm0,3A	13,6 \pm 1,3	13,0 \pm 1,6	13,1 \pm 1,5	13,1 \pm 1,4	13,2\pm0,6A
Media	14,7\pm0,1ab	15,1\pm0,2a	14,5\pm0,2ab	14,1\pm0,2b	14,6\pm0,3a	9,6\pm0,1	9,2\pm0,1	9,3\pm0,1	9,6\pm0,1	9,4\pm0,2β	12,2\pm0,3	12,2\pm0,4	11,9\pm0,3	11,8\pm0,3	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.

Tabla IX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el índice de sedimentación SDS (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	SDS (%)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	59,7 \pm 2,7	58,0 \pm 2,5	59,0 \pm 2,5	60,3 \pm 2,3	59,3\pm1,0G	54,3 \pm 1,6B	50,7 \pm 2,2B	50,0 \pm 3,5B	51,0 \pm 1,9BC	51,5\pm1,0D	57,0 \pm 1,8	54,3 \pm 2,2	54,5 \pm 2,8	55,7 \pm 2,6	55,4\pm1,1D
INIAV-2	54,7 \pm 2,3	51,7 \pm 2,7	54,3 \pm 2,9	49,7 \pm 0,4	52,8\pm1,1H	47,7 \pm 3,3C	42,7 \pm 2,2C	42,7 \pm 1,8C	42,7 \pm 1,8D	43,9\pm1,1F	51,2 \pm 2,3	47,2 \pm 2,6	48,5 \pm 3,2	46,2 \pm 1,9	48,3\pm1,2E
INIAV-3	66,0 \pm 1,4	54,3 \pm 6,3	65,3 \pm 2,7	59,3 \pm 1,6	61,3\pm2,0FG	51,3 \pm 1,8C	49,0 \pm 1,9BC	45,7 \pm 3,2BC	46,7 \pm 2,7C	48,2\pm1,1E	58,7 \pm 3,7	51,7 \pm 2,9	55,5 \pm 5,1	53,0 \pm 3,3	54,7\pm1,8D
INIAV-4	75,7 \pm 7,4	73,7 \pm 2,9	77,0 \pm 2,1	69,0 \pm 1,2	73,8\pm1,8B	49,7 \pm 1,5aC	49,0 \pm 1,9bBC	47,3 \pm 2,2bBC	56,0 \pm 1,4aB	50,5\pm1,2DE	62,7 \pm 7,1	61,3 \pm 6,2	62,2 \pm 7,4	62,5 \pm 3,3	62,2\pm2,7C
INIAV-5	68,7 \pm 5,0	63,3 \pm 4,5	72,0 \pm 2,5	60,7 \pm 1,5	66,2\pm1,9DE	61,0 \pm 5,1aA	58,7 \pm 3,6aA	59,0 \pm 1,2aA	54,3 \pm 2,9bB	58,3\pm1,5ABC	64,8 \pm 3,4	61,0 \pm 2,6	65,5 \pm 3,4	57,5 \pm 2,0	62,2\pm1,4C
INIAV-6	72,3 \pm 1,5	67,0 \pm 0,7	75,3 \pm 1,5	69,3 \pm 0,4	71,0\pm1,1BC	61,3 \pm 0,8A	60,3 \pm 1,5A	59,3 \pm 1,5A	62,0 \pm 3,2A	60,8\pm0,8AB	66,8 \pm 2,8	63,7 \pm 1,8	67,3 \pm 4,0	65,7 \pm 2,2	65,9\pm1,3B
INIAV-7	81,0 \pm 5,6	82,3 \pm 1,8	84,3 \pm 2,7	69,0 \pm 8,2	79,2\pm2,7A	63,0 \pm 1,2A	59,7 \pm 6,0A	58,0 \pm 2,1A	63,0 \pm 2,8A	60,9\pm1,5A	72,0 \pm 5,0	71,0 \pm 6,1	71,2 \pm 6,6	66,0 \pm 3,8	70,0\pm2,4A
INIAV-8	73,7 \pm 2,2	73,3 \pm 2,9	76,3 \pm 3,9	69,7 \pm 4,6	73,3\pm1,5B	47,7 \pm 3,3aC	50,7 \pm 5,3aB	47,0 \pm 0,7bBC	53,7 \pm 2,3aB	49,8\pm1,5DE	60,7 \pm 6,6	62,0 \pm 6,1	61,7 \pm 7,4	61,7 \pm 4,4	61,5\pm2,7C
INIAV-9	66,0 \pm 1,9	57,0 \pm 3,9	63,0 \pm 0,7	56,7 \pm 3,6	60,7\pm1,6G	50,3 \pm 1,1C	52,0 \pm 4,3B	49,3 \pm 2,2BC	46,3 \pm 1,1C	49,5\pm1,1DE	58,2 \pm 3,9	54,5 \pm 2,6	56,2 \pm 3,5	51,5 \pm 2,9	55,1\pm1,5D
INIAV-10	75,7 \pm 2,9	65,7 \pm 1,5	67,3 \pm 1,8	60,3 \pm 3,3	67,3\pm2,0DE	66,7 \pm 3,3aA	58,0 \pm 0,1bA	51,0 \pm 2,5cB	57,3 \pm 1,1bAB	58,3\pm1,9ABC	71,2 \pm 2,8	61,8 \pm 2,0	59,2 \pm 4,2	58,8 \pm 1,6	62,8\pm1,6C
Ardila	41,0 \pm 0,7	36,3 \pm 2,9	43,7 \pm 0,8	40,7 \pm 2,9	40,4\pm1,1I	49,7 \pm 1,1aC	39,0 \pm 6,0bC	34,7 \pm 1,5bD	37,0 \pm 3,7bD	40,1\pm2,3G	45,3 \pm 2,2	37,7 \pm 2,8	39,2 \pm 2,3	38,8 \pm 2,1	40,3\pm1,2F
Nabão	71,3 \pm 4,3	71,7 \pm 4,0	70,7 \pm 4,7	61,7 \pm 1,1	68,8\pm1,9CD	60,0 \pm 1,9aB	53,3 \pm 1,8bB	56,7 \pm 3,9aA	56,0 \pm 3,7aB	56,5\pm1,3C	65,7 \pm 3,3	62,5 \pm 4,8	63,7 \pm 4,2	58,8 \pm 2,1	62,7\pm1,7C
Roxo	65,0 \pm 2,5	65,7 \pm 1,5	64,3 \pm 2,2	63,0 \pm 2,5	64,5\pm0,9EF	60,3 \pm 2,5AB	58,3 \pm 2,0A	56,7 \pm 3,6A	55,3 \pm 1,8B	57,7\pm1,1BC	62,7 \pm 1,8	62,0 \pm 2,1	60,5 \pm 2,5	59,2 \pm 2,3	61,1\pm1,0C
Media	67,0\pm1,8a	63,1\pm2,0b	67,1\pm1,8a	60,7\pm1,5b	64,5\pm0,9a	55,6\pm1,1a	52,4\pm1,2b	52,6\pm1,2b	52,4\pm1,3b	52,8\pm0,6b	61,3\pm1,2a	57,7\pm1,3bc	58,8\pm1,4b	56,6\pm1,1c	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla X. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de cenizas (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Cenizas (%)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	1,57 \pm 0,13	1,80 \pm 0,03	1,56 \pm 0,12	1,79 \pm 0,02	1,68\pm0,05ABC	1,53 \pm 0,03aA	1,47 \pm 0,06bAB	1,50 \pm 0,03aAB	1,58 \pm 0,01aA	1,52\pm0,02A	1,55 \pm 0,06bAB	1,63 \pm 0,09aAB	1,37 \pm 0,05cC	1,69 \pm 0,05aA	1,56\pm0,03ABC
INIAV-2	1,51 \pm 0,08	1,94 \pm 0,09	1,55 \pm 0,14	1,96 \pm 0,03	1,74\pm0,07A	1,52 \pm 0,01aA	1,42 \pm 0,04cB	1,57 \pm 0,02aA	1,48 \pm 0,04aB	1,51\pm0,02AB	1,43 \pm 0,03cB	1,70 \pm 0,13aA	1,56 \pm 0,06bAB	1,72 \pm 0,12aA	1,60\pm0,04A
INIAV-3	1,60 \pm 0,09	1,77 \pm 0,06	1,61 \pm 0,03	1,82 \pm 0,04	1,70\pm0,04ABC	1,33 \pm 0,04bC	1,43 \pm 0,01aB	1,37 \pm 0,02aC	1,42 \pm 0,02aB	1,39\pm0,02FGH	1,47 \pm 0,08bB	1,60 \pm 0,09aAB	1,49 \pm 0,06bBC	1,62 \pm 0,10aA	1,54\pm0,04ABC
INIAV-4	1,46 \pm 0,20	1,66 \pm 0,01	1,56 \pm 0,03	1,61 \pm 0,02	1,57\pm0,04D	1,43 \pm 0,01B	1,40 \pm 0,02B	1,45 \pm 0,02BC	1,43 \pm 0,02B	1,43\pm0,01DE	1,45 \pm 0,08B	1,53 \pm 0,06B	1,51 \pm 0,03B	1,52 \pm 0,04B	1,50\pm0,03C
INIAV-5	1,64 \pm 0,16	1,76 \pm 0,01	1,63 \pm 0,04	1,74 \pm 0,04	1,69\pm0,04ABC	1,46 \pm 0,03B	1,44 \pm 0,04B	1,47 \pm 0,02BC	1,43 \pm 0,02B	1,45\pm0,01CD	1,55 \pm 0,08AB	1,60 \pm 0,08AB	1,55 \pm 0,04AB	1,59 \pm 0,08B	1,57\pm0,03AB
INIAV-6	1,52 \pm 0,09	1,77 \pm 0,02	1,60 \pm 0,05	1,82 \pm 0,03	1,68\pm0,04ABC	1,42 \pm 0,05B	1,43 \pm 0,01B	1,49 \pm 0,05AB	1,46 \pm 0,01B	1,45\pm0,02CD	1,47 \pm 0,05B	1,60 \pm 0,08AB	1,55 \pm 0,04AB	1,56 \pm 0,09B	1,55\pm0,03ABC
INIAV-7	1,54 \pm 0,21	1,75 \pm 0,05	1,56 \pm 0,09	1,74 \pm 0,02	1,65\pm0,05BCD	1,44 \pm 0,02B	1,47 \pm 0,03AB	1,39 \pm 0,01AB	1,44 \pm 0,03B	1,46\pm0,01CD	1,49 \pm 0,09AB	1,61 \pm 0,07AB	1,53 \pm 0,04AB	1,59 \pm 0,08B	1,55\pm0,03ABC
INIAV-8	1,48 \pm 0,09	1,79 \pm 0,05	1,58 \pm 0,00	1,81 \pm 0,16	1,67\pm0,06ABC	1,42 \pm 0,03aB	1,30 \pm 0,01bC	1,39 \pm 0,03aC	1,31 \pm 0,04bC	1,35\pm0,02H	1,45 \pm 0,04B	1,55 \pm 0,12B	1,49 \pm 0,05BC	1,56 \pm 0,14B	1,51\pm0,04C
INIAV-9	1,48 \pm 0,02	1,74 \pm 0,03	1,63 \pm 0,08	1,81 \pm 0,05	1,66\pm0,04ABC	1,38 \pm 0,05aC	1,34 \pm 0,06bC	1,42 \pm 0,01aBC	1,45 \pm 0,01aB	1,40\pm0,02EFG	1,43 \pm 0,03bB	1,54 \pm 0,10aB	1,52 \pm 0,06aAB	1,56 \pm 0,09aB	1,51\pm0,04C
INIAV-10	1,57 \pm 0,08	1,73 \pm 0,04	1,60 \pm 0,11	1,75 \pm 0,04	1,66\pm0,04ABC	1,33 \pm 0,01bC	1,33 \pm 0,03bC	1,49 \pm 0,01aAB	1,36 \pm 0,02bC	1,38\pm0,02GH	1,45 \pm 0,07B	1,53 \pm 0,10B	1,55 \pm 0,05AB	1,55 \pm 0,10B	1,52\pm0,04BC
Ardila	1,57 \pm 0,10	1,81 \pm 0,04	1,71 \pm 0,06	1,82 \pm 0,04	1,73\pm0,04AB	1,49 \pm 0,07aB	1,48 \pm 0,01aAB	1,51 \pm 0,06aA	1,41 \pm 0,05bB	1,47\pm0,02BC	1,53 \pm 0,05AB	1,65 \pm 0,08A	1,61 \pm 0,06A	1,62 \pm 0,10A	1,60\pm0,04A
Nabão	1,62 \pm 0,05	1,67 \pm 0,03	1,59 \pm 0,02	1,67 \pm 0,02	1,64\pm0,02CD	1,40 \pm 0,02C	1,40 \pm 0,03B	1,46 \pm 0,06BC	1,43 \pm 0,01B	1,42\pm0,02DEF	1,51 \pm 0,06AB	1,54 \pm 0,07B	1,52 \pm 0,04AB	1,48 \pm 0,06B	1,51\pm0,02C
Roxo	1,60 \pm 0,09	1,79 \pm 0,08	1,70 \pm 0,03	1,79 \pm 0,03	1,72\pm0,03ABC	1,59 \pm 0,07aA	1,54 \pm 0,06aA	1,51 \pm 0,01bA	1,45 \pm 0,05bB	1,53\pm0,02A	1,60 \pm 0,04aA	1,67 \pm 0,07aA	1,61 \pm 0,05aA	1,54 \pm 0,08bB	1,60\pm0,03A
Media	1,55\pm0,02b	1,77\pm0,01a	1,61\pm0,02b	1,78\pm0,02a	1,68\pm0,01a	1,44\pm0,01b	1,42\pm0,01b	1,47\pm0,01a	1,43\pm0,01b	1,42\pm0,01β	1,49\pm0,02b	1,59\pm0,02a	1,53\pm0,01b	1,58\pm0,02a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.

Tabla XI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido Zn total en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Contenido Zn total en grano (mg kg ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	46 \pm 4	33 \pm 2	57 \pm 3	58 \pm 6	48\pm4ABCD	14 \pm 2	24 \pm 2	51 \pm 1	49 \pm 2	34\pm5ABCD	30 \pm 8	28 \pm 2	54 \pm 2	53 \pm 4	41\pm3AB
INIAV-2	33 \pm 2	31 \pm 1	54 \pm 4	58 \pm 4	44\pm4BCDEF	15 \pm 3	20 \pm 3	49 \pm 4	45 \pm 4	32\pm5BCDE	24 \pm 5	26 \pm 4	52 \pm 2	52 \pm 4	38\pm3CDE
INIAV-3	36 \pm 6	41 \pm 6	63 \pm 8	61 \pm 2	50\pm4ABC	12 \pm 1	14 \pm 2	48 \pm 7	44 \pm 3	29\pm5E	24 \pm 6	27 \pm 7	55 \pm 5	53 \pm 5	40\pm4BCD
INIAV-4	35 \pm 6	34 \pm 1	51 \pm 4	46 \pm 2	41\pm3EF	17 \pm 1	18 \pm 1	44 \pm 4	44 \pm 3	31\pm4CDE	26 \pm 5	26 \pm 4	48 \pm 2	45 \pm 1	36\pm3EF
INIAV-5	33 \pm 3	33 \pm 5	49 \pm 4	56 \pm 6	43\pm4DEF	14 \pm 2	19 \pm 1	46 \pm 3	45 \pm 1	31\pm5DE	24 \pm 5	26 \pm 4	47 \pm 2	51 \pm 4	37\pm3DEF
INIAV-6	37 \pm 4	32 \pm 1	65 \pm 1	62 \pm 6	49\pm5ABCD	18 \pm 1	15 \pm 1	47 \pm 1	46 \pm 4	32\pm5BCDE	27 \pm 5	23 \pm 4	56 \pm 4	54 \pm 5	40\pm4BCD
INIAV-7	32 \pm 3	30 \pm 4	47 \pm 7	53 \pm 7	39\pm3F	18 \pm 3	16 \pm 1	42 \pm 4	45 \pm 2	30\pm4E	25 \pm 3	23 \pm 4	45 \pm 4	46 \pm 3	35\pm3F
INIAV-8	31 \pm 4	33 \pm 4	57 \pm 4	63 \pm 3	46\pm5ABCDE	16 \pm 1	15 \pm 1	47 \pm 1	47 \pm 4	31\pm5CDE	23 \pm 4	24 \pm 5	52 \pm 3	55 \pm 5	39\pm4BCDE
INIAV-9	43 \pm 4	37 \pm 5	59 \pm 4	61 \pm 2	50\pm4ABC	17 \pm 1	21 \pm 5	47 \pm 2	45 \pm 4	33\pm5BCDE	30 \pm 6	29 \pm 5	53 \pm 4	53 \pm 5	41\pm3AB
INIAV-10	32 \pm 6	33 \pm 3	59 \pm 4	54 \pm 2	45\pm4BCDEF	18 \pm 2	17 \pm 2	42 \pm 1	42 \pm 3	30\pm4E	25 \pm 5	25 \pm 5	51 \pm 5	48 \pm 4	37\pm3DEF
Ardila	37 \pm 0	36 \pm 4	60 \pm 4	58 \pm 2	48\pm4ABCD	16 \pm 1	24 \pm 2	47 \pm 1	52 \pm 1	35\pm5ABC	27 \pm 5	30 \pm 4	54 \pm 4	55 \pm 2	41\pm3AB
Nabão	36 \pm 2	37 \pm 4	51 \pm 3	53 \pm 2	44\pm3BCDEF	20 \pm 2	24 \pm 3	49 \pm 3	51 \pm 6	36\pm5A	28 \pm 4	31 \pm 4	50 \pm 1	52 \pm 2	40\pm3BCD
Roxo	37 \pm 3	40 \pm 9	61 \pm 2	68 \pm 2	52\pm5A	20 \pm 1	23 \pm 1	52 \pm 1	51 \pm 1	36\pm5A	29 \pm 4	32 \pm 6	57 \pm 3	60 \pm 5	44\pm4A
Media	36\pm1b	35\pm1b	56\pm1a	57\pm1a	46\pm1α	17\pm1c	19\pm1b	47\pm1a	47\pm1a	32\pm1β	26\pm1b	27\pm1b	52\pm1a	52\pm1a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla XII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre la acumulación de Zn por hectárea en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Acumulación Zn por hectárea (g ha ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	106 \pm 10	110 \pm 8	130 \pm 10	160 \pm 8	127\pm7A	52 \pm 7cAB	82 \pm 9bA	184 \pm 6aA	169 \pm 20aB	122\pm18AB	79 \pm 14bA	96 \pm 8bA	157 \pm 14aA	164 \pm 9aA	124\pm9A
INIAV-2	55 \pm 8	78 \pm 1	106 \pm 12	156 \pm 16	99\pm12CD	56 \pm 9cAB	77 \pm 12cAB	201 \pm 20aA	171 \pm 24bAB	126\pm20A	56 \pm 5cBC	78 \pm 5bB	153 \pm 25aA	163 \pm 12aA	112\pm12B
INIAV-3	63 \pm 8	84 \pm 14	91 \pm 8	108 \pm 4	86\pm6DE	41 \pm 3bB	57 \pm 5bB	157 \pm 22aB	156 \pm 12aB	103\pm18C	52 \pm 6bBC	70 \pm 9bBC	124 \pm 19aBC	132 \pm 13aBC	95\pm9CD
INIAV-4	52 \pm 11	61 \pm 13	85 \pm 5	87 \pm 20	71\pm7F	43 \pm 5bB	64 \pm 2bB	142 \pm 15aBC	166 \pm 24aB	104\pm17C	47 \pm 5bC	63 \pm 5bBC	113 \pm 15aC	127 \pm 23aC	87\pm9D
INIAV-5	72 \pm 4	81 \pm 20	87 \pm 11	133 \pm 17	93\pm9DE	48 \pm 4bAB	74 \pm 6bAB	159 \pm 14aB	158 \pm 20aB	110\pm16BC	60 \pm 6cBC	78 \pm 8cB	123 \pm 19bBC	146 \pm 12aB	101\pm9C
INIAV-6	89 \pm 7	83 \pm 5	127 \pm 5	148 \pm 16	112\pm9BC	70 \pm 5bA	61 \pm 3bB	161 \pm 9aB	161 \pm 24aB	113\pm16BC	79 \pm 6bA	72 \pm 6bBC	144 \pm 9aA	155 \pm 12aA	112\pm9B
INIAV-7	59 \pm 7	56 \pm 14	82 \pm 9	77 \pm 6	69\pm5F	68 \pm 10bA	59 \pm 4bB	145 \pm 2aBC	161 \pm 11aB	108\pm14C	64 \pm 5bBC	58 \pm 6bC	114 \pm 16aC	119 \pm 21aC	89\pm8D
INIAV-8	50 \pm 5	70 \pm 4	100 \pm 3	108 \pm 4	82\pm7EF	58 \pm 2cAB	55 \pm 1cB	136 \pm 10bC	186 \pm 15aA	109\pm18C	54 \pm 3cBC	63 \pm 4cBC	118 \pm 10bBC	147 \pm 20aB	95\pm10CD
INIAV-9	109 \pm 6	103 \pm 20	133 \pm 24	135 \pm 10	120\pm8AB	65 \pm 7bAB	80 \pm 16bAB	139 \pm 13aC	164 \pm 19aB	112\pm14BC	87 \pm 11bA	91 \pm 12bA	136 \pm 11aB	150 \pm 11aB	116\pm8AB
INIAV-10	53 \pm 7	71 \pm 10	93 \pm 16	104 \pm 4	80\pm7EF	66 \pm 7bAB	65 \pm 8bB	153 \pm 10aBC	169 \pm 16aB	113\pm16BC	59 \pm 5bBC	68 \pm 5bBC	123 \pm 16aBC	136 \pm 17aBC	97\pm9CD
Ardila	75 \pm 8	103 \pm 14	104 \pm 7	146 \pm 11	107\pm9BC	58 \pm 4dAB	92 \pm 3cA	168 \pm 7bB	197 \pm 8aA	129\pm18A	67 \pm 6dB	98 \pm 6cA	136 \pm 16bB	171 \pm 14aA	118\pm10AB
Nabão	86 \pm 10	120 \pm 15	118 \pm 1	135 \pm 5	115\pm6AB	57 \pm 6dAB	77 \pm 8cAB	129 \pm 11bC	172 \pm 18aAB	109\pm15C	72 \pm 9dA	98 \pm 12cA	124 \pm 3bBC	153 \pm 12aA	112\pm8B
Roxo	65 \pm 9	91 \pm 30	106 \pm 26	133 \pm 4	99\pm11CD	66 \pm 4cAB	84 \pm 2cA	164 \pm 12bB	196 \pm 20aA	129\pm17A	65 \pm 4dBC	90 \pm 12cA	135 \pm 18bB	164 \pm 17aA	114\pm10B
Media	72\pm4d	86\pm4c	105\pm4b	125\pm5a	97\pm3β	57\pm2b	72\pm2b	157\pm4a	171\pm4a	114\pm4a	65\pm2d	79\pm3c	131\pm4b	148\pm4a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test.



Tabla XIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de K en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	K (%)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	0,38 \pm 0,01	0,40 \pm 0,02	0,40 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,39\pm0,01C	0,43 \pm 0,02	0,42 \pm 0,02	0,45 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,43\pm0,01BCD	0,41 \pm 0,02	0,41 \pm 0,01	0,43 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,41\pm0,01CD
INIAV-2	0,42 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01	0,43 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,41\pm0,01B	0,47 \pm 0,01	0,43 \pm 0,02	0,47 \pm 0,02	0,43 \pm 0,02	0,45\pm0,01A	0,44 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0,45 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01	0,43\pm0,01A
INIAV-3	0,38 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01	0,39 \pm 0,02	0,36 \pm 0,01	0,37\pm0,01DE	0,45 \pm 0,02	0,38 \pm 0,04	0,47 \pm 0,01	0,42 \pm 0,02	0,44\pm0,01ABCD	0,42 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	0,43 \pm 0,02	0,39 \pm 0,01	0,40\pm0,01DE
INIAV-4	0,43 \pm 0,02	0,40 \pm 0,02	0,43 \pm 0,03	0,41 \pm 0,01	0,42\pm0,01AB	0,42 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,45 \pm 0,01	0,40 \pm 0,02	0,41\pm0,01DEF	0,43 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,44 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,42\pm0,01BC
INIAV-5	0,46 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,45 \pm 0,01	0,42 \pm 0,03	0,43\pm0,01A	0,45 \pm 0,01	0,43 \pm 0,02	0,46 \pm 0,01	0,40 \pm 0,02	0,44\pm0,01ABCD	0,46 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01	0,45 \pm 0,01	0,41 \pm 0,02	0,43\pm0,01A
INIAV-6	0,36 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,35\pm0,01F	0,43 \pm 0,02	0,37 \pm 0,03	0,42 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,40\pm0,01EF	0,40 \pm 0,02	0,35 \pm 0,01	0,39 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	0,38\pm0,01G
INIAV-7	0,38 \pm 0,03	0,40 \pm 0,02	0,40 \pm 0,02	0,41 \pm 0,02	0,40\pm0,01C	0,45 \pm 0,03	0,42 \pm 0,01	0,45 \pm 0,03	0,44 \pm 0,01	0,44\pm0,01ABCD	0,41 \pm 0,02	0,41 \pm 0,01	0,42 \pm 0,02	0,42 \pm 0,02	0,42\pm0,01BC
INIAV-8	0,36 \pm 0,01	0,34 \pm 0,02	0,36 \pm 0,01	0,33 \pm 0,01	0,35\pm0,01F	0,42 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,44 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0,42\pm0,01CDEF	0,39 \pm 0,01	0,37 \pm 0,02	0,40 \pm 0,02	0,37 \pm 0,02	0,38\pm0,01FG
INIAV-9	0,38 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01	0,38 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	0,37\pm0,01DE	0,43 \pm 0,02	0,42 \pm 0,01	0,46 \pm 0,01	0,45 \pm 0,01	0,44\pm0,01ABCD	0,40 \pm 0,02	0,39 \pm 0,01	0,41 \pm 0,02	0,41 \pm 0,02	0,41\pm0,01CD
INIAV-10	0,38 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,38 \pm 0,01	0,38\pm0,01D	0,44 \pm 0,01	0,43 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01	0,43\pm0,01BCD	0,41 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,40\pm0,01DE
Ardila	0,45 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	0,42\pm0,01AB	0,45 \pm 0,02	0,43 \pm 0,03	0,49 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01	0,45\pm0,01A	0,45 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0,45 \pm 0,02	0,41 \pm 0,01	0,43\pm0,01A
Nabão	0,39 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,39 \pm 0,02	0,38\pm0,01D	0,40 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0,41 \pm 0,02	0,41\pm0,01DEF	0,39 \pm 0,01	0,38 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,4 \pm 0,01	0,39\pm0,01EF
Roxo	0,37 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,36\pm0,01E	0,39 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,43 \pm 0,01	0,40 \pm 0,02	0,40\pm0,01F	0,38 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,38 \pm 0,01	0,38\pm0,01G
Media	0,40\pm0,01a	0,38\pm0,01b	0,39\pm0,01a	0,38\pm0,01b	0,39\pm0,01β	0,43\pm0,01b	0,40\pm0,01c	0,45\pm0,01a	0,41\pm0,01c	0,43\pm0,01α	0,41\pm0,01a	0,39\pm0,01b	0,42\pm0,01a	0,40\pm0,01b	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test.



Tabla XIV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de P en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	P (%)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	0,47 \pm 0,02A	0,42 \pm 0,01AB	0,45 \pm 0,01A	0,44 \pm 0,02AB	0,44\pm0,01B	0,34 \pm 0,02	0,33 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,35\pm0,01AB	0,40 \pm 0,03aB	0,38 \pm 0,02bBC	0,41 \pm 0,02aAB	0,39 \pm 0,03aAB	0,39\pm0,01BC
INIAV-2	0,42 \pm 0,01B	0,40 \pm 0,01BC	0,44 \pm 0,01AB	0,42 \pm 0,01BC	0,42\pm0,01DE	0,31 \pm 0,01	0,31 \pm 0,02	0,34 \pm 0,02	0,31 \pm 0,01	0,32\pm0,01CD	0,37 \pm 0,03bC	0,36 \pm 0,03bBC	0,39 \pm 0,02aB	0,36 \pm 0,03bB	0,37\pm0,01DE
INIAV-3	0,43 \pm 0,01B	0,44 \pm 0,03AB	0,43 \pm 0,01AB	0,43 \pm 0,01AB	0,43\pm0,01CD	0,28 \pm 0,01	0,27 \pm 0,02	0,32 \pm 0,01	0,29 \pm 0,02	0,29\pm0,01E	0,36 \pm 0,04aC	0,36 \pm 0,05bBC	0,38 \pm 0,03aBC	0,36 \pm 0,04bB	0,36\pm0,02E
INIAV-4	0,42 \pm 0,01B	0,39 \pm 0,02BC	0,41 \pm 0,01BC	0,39 \pm 0,01C	0,40\pm0,01G	0,33 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,29 \pm 0,01	0,32\pm0,01CD	0,38 \pm 0,02aBC	0,35 \pm 0,02bC	0,38 \pm 0,02aBC	0,34 \pm 0,02bC	0,36\pm0,01E
INIAV-5	0,46 \pm 0,01AB	0,40 \pm 0,01BC	0,44 \pm 0,01AB	0,43 \pm 0,01AB	0,43\pm0,01CD	0,31 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,31\pm0,01DE	0,38 \pm 0,04aBC	0,35 \pm 0,02bC	0,38 \pm 0,03aB	0,36 \pm 0,04bBC	0,37\pm0,01DE
INIAV-6	0,45 \pm 0,01AB	0,41 \pm 0,01BC	0,43 \pm 0,01AB	0,43 \pm 0,01AB	0,43\pm0,01CD	0,35 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02	0,33\pm0,01BC	0,40 \pm 0,02aB	0,35 \pm 0,03bC	0,39 \pm 0,02aB	0,38 \pm 0,03aB	0,38\pm0,01BC
INIAV-7	0,40 \pm 0,02B	0,41 \pm 0,01BC	0,38 \pm 0,03C	0,43 \pm 0,01AB	0,40\pm0,01G	0,35 \pm 0,02	0,32 \pm 0,01	0,34 \pm 0,02	0,33 \pm 0,01	0,33\pm0,01BC	0,38 \pm 0,02aBC	0,37 \pm 0,02aBC	0,36 \pm 0,02bC	0,38 \pm 0,02aB	0,37\pm0,01DE
INIAV-8	0,42 \pm 0,02B	0,41 \pm 0,01BC	0,42 \pm 0,01AB	0,42 \pm 0,01BC	0,42\pm0,01DE	0,31 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01	0,29 \pm 0,02	0,30\pm0,01DE	0,37 \pm 0,03aC	0,34 \pm 0,03bC	0,37 \pm 0,02aBC	0,35 \pm 0,04bC	0,36\pm0,01E
INIAV-9	0,44 \pm 0,01AB	0,40 \pm 0,02BC	0,42 \pm 0,02AB	0,43 \pm 0,01AB	0,42\pm0,01DE	0,33 \pm 0,02	0,31 \pm 0,02	0,31 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01	0,31\pm0,01DE	0,39 \pm 0,03aB	0,36 \pm 0,03bBC	0,37 \pm 0,03bBC	0,37 \pm 0,03bB	0,37\pm0,01DE
INIAV-10	0,42 \pm 0,01B	0,41 \pm 0,01BC	0,43 \pm 0,01AB	0,43 \pm 0,01AB	0,42\pm0,01DE	0,34 \pm 0,01	0,31 \pm 0,03	0,32 \pm 0,02	0,30 \pm 0,04	0,32\pm0,01CD	0,38 \pm 0,02aBC	0,36 \pm 0,03bBC	0,38 \pm 0,03aB	0,36 \pm 0,04bB	0,37\pm0,01DE
Ardila	0,46 \pm 0,01A	0,41 \pm 0,03BC	0,44 \pm 0,01AB	0,41 \pm 0,01BC	0,43\pm0,01CD	0,35 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,35\pm0,01AB	0,41 \pm 0,03aAB	0,38 \pm 0,02bBC	0,40 \pm 0,02aAB	0,38 \pm 0,02bB	0,39\pm0,01BC
Nabão	0,41 \pm 0,01B	0,38 \pm 0,01C	0,40 \pm 0,01BC	0,40 \pm 0,01C	0,40\pm0,01G	0,34 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,33 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,34\pm0,01BC	0,36 \pm 0,02C	0,36 \pm 0,01BC	0,36 \pm 0,02BC	0,37 \pm 0,02B	0,36\pm0,01E
Roxo	0,47 \pm 0,01A	0,45 \pm 0,02A	0,44 \pm 0,01AB	0,46 \pm 0,01A	0,46\pm0,01A	0,38 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,35 \pm 0,02	0,37\pm0,01A	0,43 \pm 0,02aA	0,41 \pm 0,02bA	0,42 \pm 0,02aA	0,41 \pm 0,03bA	0,42\pm0,01A
Media	0,44\pm0,01a	0,41\pm0,01c	0,43\pm0,01b	0,43\pm0,01b	0,42\pm0,01a	0,33\pm0,01a	0,32\pm0,01b	0,34\pm0,01a	0,32\pm0,01b	0,33\pm0,01b	0,38\pm0,01a	0,36\pm0,01c	0,38\pm0,01a	0,37\pm0,01b	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.

Tabla XV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de S en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum L.*) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	S (%)														
	2010/11					2012/13					Media				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17\pm0,01DE	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13\pm0,01A	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14\pm0,01C
INIAV-2	0,14 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,16\pm0,01FG	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01BC	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14\pm0,01C
INIAV-3	0,16 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,18\pm0,01A	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11\pm0,01C	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02	0,15\pm0,01B
INIAV-4	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,15\pm0,01I	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10\pm0,01D	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,12\pm0,01D
INIAV-5	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,16\pm0,01FG	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11\pm0,01C	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14\pm0,01C
INIAV-6	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17\pm0,01DE	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02	0,12\pm0,01BC	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,15\pm0,01B
INIAV-7	0,17 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,16\pm0,01FG	0,13 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01BC	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14\pm0,01C
INIAV-8	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,17\pm0,01DE	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10\pm0,01D	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02	0,13 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,14\pm0,01C
INIAV-9	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17\pm0,01DE	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11\pm0,01C	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,14\pm0,01C
INIAV-10	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17\pm0,01DE	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11\pm0,01C	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,01	0,14\pm0,01C
Ardila	0,16 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,17\pm0,01DE	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13\pm0,01AB	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,15\pm0,01B
Nabão	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,15\pm0,01I	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,12\pm0,01BC	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14\pm0,01C
Roxo	0,18 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01	0,18\pm0,01A	0,14 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13\pm0,01A	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02	0,16 \pm 0,01	0,16\pm0,01A
Media	0,15\pm0,01c	0,17\pm0,01ab	0,16\pm0,01b	0,17\pm0,01a	0,17\pm0,01a	0,12\pm0,01a	0,11\pm0,01b	0,11\pm0,01b	0,12\pm0,01a	0,12\pm0,01β	0,14\pm0,01b	0,14\pm0,01b	0,14\pm0,01b	0,15\pm0,01a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test.



Tabla XVI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Mg en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Mg (%)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	0,14 \pm 0,01	0,19 \pm 0,07	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,15\pm0,01A	0,10 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10\pm0,01CD	0,12 \pm 0,01	0,15 \pm 0,04	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13\pm0,01A
INIAV-2	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01CDEF	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,09\pm0,01D	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11\pm0,01DE
INIAV-3	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13\pm0,01BCD	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,09\pm0,01D	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01BCD
INIAV-4	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11\pm0,01F	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09\pm0,01D	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10\pm0,01E
INIAV-5	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13\pm0,01BCD	0,10 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10\pm0,01CD	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01BCD
INIAV-6	0,15 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14\pm0,01ABC	0,10 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10\pm0,01CD	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01BCD
INIAV-7	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,12\pm0,01CDEF	0,10 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,09\pm0,01D	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11\pm0,01DE
INIAV-8	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13\pm0,01BCD	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09\pm0,01D	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11\pm0,01CDE
INIAV-9	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13\pm0,01BCD	0,10 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10\pm0,01CD	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01BCD
INIAV-10	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13\pm0,01BCD	0,10 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,09\pm0,01D	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,11\pm0,01DE
Ardila	0,15 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14\pm0,01ABC	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11\pm0,01B	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13\pm0,01A
Nabão	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01CDEF	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10\pm0,01CD	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,00BCD
Roxo	0,14 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14\pm0,01ABC	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12\pm0,01A	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,13\pm0,01A
Media	0,13\pm0,01	0,13\pm0,01	0,13\pm0,01	0,13\pm0,01	0,13\pm0,01α	0,10\pm0,01a	0,09\pm0,01c	0,10\pm0,01a	0,10\pm0,01a	0,10\pm0,01β	0,12\pm0,01a	0,11\pm0,01b	0,12\pm0,01a	0,12\pm0,01a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla XVII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Ca en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Ca (mg kg ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	354 \pm 14	403 \pm 11	377 \pm 12	397 \pm 8	383\pm7F	408 \pm 16	446 \pm 1	409 \pm 12	394 \pm 15	414\pm1CD	381 \pm 14	425 \pm 12	393 \pm 11	396 \pm 7	399\pm6G
INIAV-2	487 \pm 23	519 \pm 18	514 \pm 19	481 \pm 9	500\pm8A	473 \pm 19	475 \pm 39	494 \pm 34	472 \pm 29	479\pm2A	480 \pm 13	497 \pm 15	504 \pm 11	477 \pm 6	490\pm7AB
INIAV-3	494 \pm 14	446 \pm 22	484 \pm 27	503 \pm 15	481\pm10AB	454 \pm 30	457 \pm 19	434 \pm 22	510 \pm 22	464\pm1A	474 \pm 18	452 \pm 13	459 \pm 21	507 \pm 10	473\pm8BC
INIAV-4	448 \pm 7	426 \pm 14	438 \pm 12	437 \pm 7	437\pm5CDE	405 \pm 6	366 \pm 30	427 \pm 28	390 \pm 21	397\pm1D	426 \pm 12	396 \pm 22	433 \pm 13	414 \pm 13	417\pm7FG
INIAV-5	449 \pm 16	474 \pm 38	455 \pm 31	477 \pm 13	463\pm10BC	460 \pm 41	405 \pm 17	411 \pm 24	418 \pm 38	424\pm2BCD	454 \pm 10	439 \pm 24	433 \pm 20	448 \pm 17	444\pm9DE
INIAV-6	437 \pm 10	438 \pm 15	438 \pm 32	437 \pm 33	437\pm9CDE	440 \pm 12	366 \pm 40	441 \pm 11	424 \pm 30	418\pm2CD	439 \pm 7	402 \pm 27	439 \pm 14	430 \pm 17	428\pm8EF
INIAV-7	419 \pm 16	468 \pm 19	408 \pm 20	422 \pm 39	429\pm12DE	442 \pm 28	377 \pm 43	420 \pm 19	468 \pm 31	427\pm1BC	431 \pm 10	423 \pm 33	414 \pm 12	445 \pm 25	428\pm9EF
INIAV-8	424 \pm 30	414 \pm 34	440 \pm 15	403 \pm 35	420\pm12E	437 \pm 27	379 \pm 54	431 \pm 13	425 \pm 41	418\pm1CD	430 \pm 16	397 \pm 25	436 \pm 8	414 \pm 16	419\pm9FG
INIAV-9	415 \pm 34	448 \pm 47	423 \pm 49	492 \pm 56	444\pm20CDE	387 \pm 17	376 \pm 17	428 \pm 5	390 \pm 32	395\pm1D	401 \pm 16	412 \pm 30	425 \pm 22	441 \pm 36	420\pm12F
INIAV-10	466 \pm 26	441 \pm 24	479 \pm 16	451 \pm 1	459\pm8BCD	427 \pm 14	437 \pm 11	468 \pm 15	469 \pm 4	450\pm1AB	446 \pm 13	439 \pm 12	474 \pm 9	460 \pm 5	455\pm5CD
Ardila	431 \pm 7	421 \pm 14	398 \pm 11	411 \pm 21	415\pm7E	418 \pm 14	399 \pm 13	410 \pm 31	421 \pm 21	412\pm1CD	425 \pm 7	410 \pm 10	404 \pm 13	416 \pm 11	414\pm5FG
Nabão	510 \pm 24	497 \pm 18	484 \pm 17	545 \pm 18	509\pm10A	481 \pm 23	450 \pm 24	469 \pm 7	511 \pm 39	478\pm2A	496 \pm 15	474 \pm 18	476 \pm 8	528 \pm 20	493\pm8A
Roxo	454 \pm 17	461 \pm 54	402 \pm 35	415 \pm 28	433\pm15DE	463 \pm 27	433 \pm 8	488 \pm 37	512 \pm 13	474\pm1A	458 \pm 8	447 \pm 25	445 \pm 32	464 \pm 29	454\pm10CD
Media	445\pm7	451\pm8	441\pm8	451\pm9	447\pm4	438\pm6a	413\pm8b	441\pm6a	447\pm9,0a	434\pm4	442\pm5ab	432\pm6b	441\pm5ab	449\pm6a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla XVIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Fe en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Fe (mg kg ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	32,7 \pm 1,5	30,0 \pm 1,9	36,0 \pm 1,2	42,0 \pm 5,8	35,2\pm1,8BC	35,3 \pm 1,3	33,0 \pm 3,5	42,0 \pm 1,8	38,3 \pm 1,5	37,2\pm1,8A	34,0 \pm 1,1	31,5 \pm 1,8	39,0 \pm 1,2	40,2 \pm 2,8	36,2\pm1,1B
INIAV-2	28,3 \pm 1,5	32,3 \pm 0,4	35,0 \pm 2,9	43,3 \pm 3,2	34,7\pm1,9CD	30,0 \pm 3,0	25,0 \pm 0,7	35,7 \pm 4,9	33,3 \pm 2,7	31,0\pm1,9CDE	29,2 \pm 0,7	28,7 \pm 1,8	35,2 \pm 2,5	38,3 \pm 2,4	32,8\pm1,3CD
INIAV-3	33,0 \pm 1,9	43,7 \pm 5,4	39,3 \pm 4,3	43,7 \pm 2,5	39,9\pm1,9A	32,0 \pm 1,9	28,7 \pm 0,6	35,7 \pm 1,5	36,0 \pm 2,2	33,1\pm1,9BCDE	32,5 \pm 1,1	36,2 \pm 4,5	37,5 \pm 2,0	39,8 \pm 1,9	36,5\pm1,3AB
INIAV-4	31,3 \pm 1,1	32,7 \pm 2,0	33,0 \pm 1,4	34,3 \pm 1,5	32,8\pm0,7CD	29,7 \pm 1,5	25,0 \pm 1,5	33,7 \pm 1,6	32,7 \pm 2,9	30,3\pm0,7E	30,5 \pm 1,0	29,8 \pm 2,3	33,3 \pm 0,7	33,5 \pm 0,9	31,5\pm0,8D
INIAV-5	27,7 \pm 1,5	31,3 \pm 1,5	35,0 \pm 1,2	38,3 \pm 4,7	33,1\pm1,6CD	30,3 \pm 0,5	28,3 \pm 3,9	37,7 \pm 1,6	37,0 \pm 4,5	33,3\pm1,6BCDE	29,0 \pm 0,8	29,8 \pm 0,7	36,3 \pm 1,2	37,8 \pm 2,2	33,2\pm1,1CD
INIAV-6	30,7 \pm 0,8	32,3 \pm 1,8	37,3 \pm 1,5	41,0 \pm 2,1	35,3\pm1,4BC	28,3 \pm 1,9	24,3 \pm 2,1	35,0 \pm 0,7	35,0 \pm 6,1	30,7\pm1,4DE	29,5 \pm 1,1	28,3 \pm 2,4	36,2 \pm 0,8	38,0 \pm 2,3	33,0\pm1,2CD
INIAV-7	29,3 \pm 1,6	30,3 \pm 3,3	33,0 \pm 1,2	42,0 \pm 6,4	33,6\pm2,1CD	29,7 \pm 1,5	28,7 \pm 1,3	32,7 \pm 1,1	31,3 \pm 2,0	30,6\pm2,1DE	29,5 \pm 0,9	29,5 \pm 1,6	32,8 \pm 0,6	36,5 \pm 3,6	32,1\pm1,1CD
INIAV-8	32,7 \pm 2,9	36,3 \pm 2,9	36,0 \pm 1,2	45,3 \pm 2,7	37,6\pm1,7AB	28,7 \pm 1,4	26,3 \pm 1,0	31,7 \pm 0,9	34,0 \pm 1,7	30,2\pm1,7E	30,7 \pm 1,8	31,3 \pm 3,0	33,8 \pm 1,5	39,7 \pm 3,4	33,9\pm1,3C
INIAV-9	33,3 \pm 1,5	44,3 \pm 12,7	39,3 \pm 2,5	40,0 \pm 2,9	39,3\pm2,7A	32,0 \pm 1,1	29,3 \pm 2,4	37,7 \pm 3,3	35,7 \pm 1,1	33,7\pm2,7BCD	32,7 \pm 0,9	36,8 \pm 7,0	38,5 \pm 1,5	38,0 \pm 1,9	36,5\pm1,6AB
INIAV-10	28,3 \pm 1,1	33,0 \pm 2,1	37,3 \pm 2,9	37,7 \pm 0,4	34,1\pm1,4CD	28,7 \pm 1,3	26,7 \pm 0,8	34,7 \pm 1,7	33,3 \pm 1,7	30,8\pm1,4CDE	28,5 \pm 0,7	29,8 \pm 2,0	36,0 \pm 1,7	35,5 \pm 1,4	32,5\pm0,9CD
Ardila	35,3 \pm 1,1	38,3 \pm 4,0	40,0 \pm 0,7	44,3 \pm 1,8	39,5\pm1,3A	38,0 \pm 2,4	34,0 \pm 1,7	38,3 \pm 1,2	39,7 \pm 2,2	37,5\pm1,3A	36,7 \pm 1,3	36,2 \pm 2,2	39,2 \pm 0,7	42,0 \pm 1,3	38,5\pm0,8A
Nabão	28,3 \pm 0,4	31,3 \pm 4,1	32,7 \pm 1,5	35,0 \pm 1,9	31,8\pm1,2D	28,7 \pm 1,1	29,0 \pm 3,2	36,7 \pm 2,0	41,3 \pm 6,9	33,9\pm1,2BC	28,5 \pm 0,4	30,2 \pm 2,4	34,7 \pm 1,4	38,2 \pm 2,2	32,9\pm1,2CD
Roxo	32,3 \pm 2,9	34,3 \pm 2,3	38,7 \pm 1,1	45,7 \pm 5,0	37,8\pm2,0AB	31,7 \pm 1,8	30,3 \pm 1,1	39,0 \pm 1,9	38,0 \pm 1,2	34,8\pm2,0AB	32,0 \pm 1,4	32,3 \pm 1,4	38,8 \pm 0,6	41,8 \pm 2,9	36,3\pm1,2B
Media	31,0\pm0,5c	34,6\pm1,1b	36,3\pm0,6b	41,0\pm0,9a	35,7\pm0,5α	31,0\pm0,6b	28,4\pm0,6c	36,2\pm0,6a	35,8\pm0,8a	32,8\pm0,4β	31,0\pm0,4c	31,5\pm0,7c	36,3\pm0,4b	38,4\pm0,7a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla XIX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Cu en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Cu (mg kg ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	4,3 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	4,3 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,7\pm0,2ABC	2,7 \pm 0,3	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	2,9\pm0,1CD	3,5 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,3\pm0,1C
INIAV-2	3,0 \pm 0,1	2,3 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	2,7 \pm 0,4	2,8\pm0,2E	3,0 \pm 0,1	2,7 \pm 0,3	3,3 \pm 0,5	2,7 \pm 0,2	2,9\pm0,1CD	3,0 \pm 0,1	2,5 \pm 0,2	3,3 \pm 0,3	2,7 \pm 0,2	2,8\pm0,1E
INIAV-3	4,0 \pm 0,1	3,3 \pm 0,4	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,8\pm0,1A	2,7 \pm 0,3	2,7 \pm 0,2	2,7 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	2,8\pm0,1CD	3,3 \pm 0,3	3,0 \pm 0,3	3,3 \pm 0,2	3,5 \pm 0,3	3,3\pm0,1C
INIAV-4	3,3 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,3\pm0,2BCD	3,0 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,2	3,0\pm0,1CD	3,2 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	3,5 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	3,2\pm0,1CD
INIAV-5	3,3 \pm 0,4	3,0 \pm 0,7	3,3 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	3,2\pm0,2DE	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	3,2\pm0,1BC	3,2 \pm 0,2	3,0 \pm 0,3	3,3 \pm 0,2	3,3 \pm 0,2	3,2\pm0,1CD
INIAV-6	4,0 \pm 0,1	3,3 \pm 0,4	4,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	3,8\pm0,1A	3,0 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,3	3,0\pm0,1CD	3,5 \pm 0,2	3,2 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2	3,4\pm0,1BC
INIAV-7	3,7 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,3\pm0,2BCD	3,3 \pm 0,3	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,1\pm0,1C	3,5 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	3,3 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	3,2\pm0,1CD
INIAV-8	3,3 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,3\pm0,2BCD	2,7 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	2,7 \pm 0,3	2,7\pm0,1D	3,0 \pm 0,2	2,7 \pm 0,1	3,5 \pm 0,3	2,8 \pm 0,2	3,0\pm0,1DE
INIAV-9	4,0 \pm 0,1	3,3 \pm 0,4	4,3 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	3,8\pm0,2A	3,7 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,3 \pm 0,2	3,7 \pm 0,5	3,6\pm0,1A	3,8 \pm 0,1	3,5 \pm 0,2	3,8 \pm 0,3	3,5 \pm 0,2	3,7\pm0,1AB
INIAV-10	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,2\pm0,1DE	3,0 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	2,7 \pm 0,2	2,7 \pm 0,4	2,8\pm0,1CD	3,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	3,2 \pm 0,3	2,8 \pm 0,1	3,0\pm0,1DE
Ardila	4,0 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	4,7 \pm 0,4	3,7 \pm 0,4	3,8\pm0,2A	3,3 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1	3,7 \pm 0,2	3,6\pm0,1A	3,7 \pm 0,2	3,3 \pm 0,2	4,2 \pm 0,3	3,7 \pm 0,2	3,7\pm0,1A
Nabão	3,7 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,0 \pm 0,1	3,3\pm0,2BCD	3,3 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,4	3,5\pm0,1AB	3,5 \pm 0,2	3,3 \pm 0,1	3,3 \pm 0,2	3,5 \pm 0,1	3,4\pm0,1BC
Roxo	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,8	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	3,8\pm0,2A	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,2	3,8\pm0,1A	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,4	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,2	3,8\pm0,1A
Media	3,7\pm0,1b	3,1\pm0,1c	3,9\pm0,1a	3,3\pm0,1c	3,5\pm0,1α	3,1\pm0,1	3,1\pm0,1	3,2\pm0,1	3,2\pm0,1	3,1\pm0,1β	3,4\pm0,1b	3,1\pm0,1d	3,5\pm0,1a	3,2\pm0,1c	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla XX. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn fertilizante (Control, Suelo, Foliar, Suelo+Foliar y Media), sobre el contenido de Mn en grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en los años 2010/11, 2012/13, y en el año medio.

Cultivar	Mn (mg kg ⁻¹)														
	2010/11					2012/13					Año medio				
	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media	Control	Suelo	Foliar	Suelo+Foliar	Media
INIAV-1	35,0 \pm 1,9	31,7 \pm 1,8	33,7 \pm 1,5	37,3 \pm 3,6	34,4\pm1,1BCDE	34,7 \pm 3,0	35,7 \pm 1,7	37,3 \pm 1,3	35,3 \pm 2,2	35,8\pm0,8A	34,8 \pm 1,0	33,7 \pm 1,5	35,5 \pm 1,1	36,3 \pm 1,9	35,1\pm0,7BC
INIAV-2	30,3 \pm 1,8	35,7 \pm 1,8	32,3 \pm 0,4	39,0 \pm 0,7	34,3\pm1,2BCDE	27,0 \pm 1,3	27,7 \pm 1,5	29,3 \pm 4,1	31,0 \pm 1,7	28,8\pm1,0DE	28,7 \pm 1,3	31,7 \pm 2,0	30,8 \pm 1,5	35,0 \pm 2,2	31,5\pm0,9EF
INIAV-3	31,7 \pm 0,4	40,0 \pm 3,7	34,7 \pm 3,9	40,0 \pm 2,1	36,6\pm1,6B	27,7 \pm 0,2	26,7 \pm 0,4	30,0 \pm 3,7	29,3 \pm 0,7	28,4\pm0,8E	29,7 \pm 1,0	33,3 \pm 3,8	32,3 \pm 1,9	34,5 \pm 2,6	32,5\pm1,2DE
INIAV-4	29,0 \pm 1,2	32,0 \pm 1,9	22,7 \pm 1,5	32,7 \pm 1,1	30,8\pm0,7F	31,7 \pm 0,5	28,0 \pm 2,4	30,7 \pm 1,1	29,7 \pm 2,4	30,0\pm0,8CDE	30,3 \pm 1,0	30,0 \pm 1,7	30,2 \pm 0,8	31,2 \pm 1,3	30,4\pm0,5F
INIAV-5	35,7 \pm 1,6	37,3 \pm 1,6	34,0 \pm 3,9	37,0 \pm 2,4	36,0\pm1,0BC	32,7 \pm 1,4	29,7 \pm 3,1	34,0 \pm 1,6	31,3 \pm 2,2	31,9\pm1,0BC	34,2 \pm 1,2	33,5 \pm 1,5	34,0 \pm 1,8	34,2 \pm 1,5	34,0\pm0,8CD
INIAV-6	32,0 \pm 2,5	34,3 \pm 2,9	33,7 \pm 2,0	35,0 \pm 2,1	33,8\pm1,0CDE	31,7 \pm 3,5	26,3 \pm 1,1	34,0 \pm 1,7	32,3 \pm 2,2	31,1\pm1,2BCD	31,8 \pm 1,4	30,3 \pm 2,4	33,8 \pm 1,1	33,7 \pm 1,3	32,4\pm0,8DE
INIAV-7	32,3 \pm 2,0	32,0 \pm 2,8	22,7 \pm 4,8	33,7 \pm 2,2	31,9\pm1,2EF	32,7 \pm 1,5	32,0 \pm 0,3	33,3 \pm 0,9	32,3 \pm 2,0	32,6\pm0,5B	32,5 \pm 1,1	32,0 \pm 1,3	31,5 \pm 2,4	33,0 \pm 1,0	32,3\pm0,6DE
INIAV-8	33,3 \pm 2,7	38,7 \pm 0,4	33,7 \pm 2,3	38,7 \pm 0,4	36,1\pm1,2BC	33,3 \pm 2,0	28,3 \pm 1,3	32,3 \pm 1,7	31,7 \pm 1,6	31,4\pm0,8BC	33,3 \pm 1,3	33,5 \pm 2,8	33,0 \pm 1,3	35,2 \pm 2,0	33,7\pm0,8CD
INIAV-9	34,7 \pm 1,1	34,7 \pm 1,6	37,3 \pm 0,4	37,3 \pm 0,4	36,0\pm0,6BC	37,7 \pm 3,3	34,7 \pm 1,0	37,3 \pm 0,7	38,0 \pm 1,4	36,9\pm0,8A	36,2 \pm 1,7	34,7 \pm 0,8	37,3 \pm 0,2	37,7 \pm 0,5	36,5\pm0,5B
INIAV-10	33,7 \pm 1,5	36,7 \pm 0,4	35,7 \pm 0,4	38,3 \pm 1,5	36,1\pm0,7BC	33,0 \pm 0,5	28,7 \pm 2,2	32,3 \pm 0,7	32,7 \pm 2,3	31,7\pm0,8BC	33,3 \pm 0,7	32,7 \pm 2,3	34,0 \pm 1,0	35,5 \pm 2,0	33,9\pm0,7CD
Ardila	32,7 \pm 2,5	38,3 \pm 2,9	33,7 \pm 0,4	38,3 \pm 2,7	35,8\pm1,2BCD	37,7 \pm 2,3	33,7 \pm 3,0	35,0 \pm 2,4	39,0 \pm 0,6	36,3\pm1,0A	35,2 \pm 1,9	36,0 \pm 1,4	34,3 \pm 0,9	38,7 \pm 1,2	36,0\pm0,8B
Nabão	30,3 \pm 2,3	33,3 \pm 2,7	34,3 \pm 1,8	35,7 \pm 0,8	33,4\pm0,8DE	31,3 \pm 1,1	32,7 \pm 2,3	31,3 \pm 2,1	35,0 \pm 3,7	32,6\pm1,0B	30,8 \pm 1,2	33,0 \pm 0,9	32,8 \pm 1,4	35,3 \pm 1,4	33,0\pm0,6DE
Roxo	39,7 \pm 5,3	40,7 \pm 2,2	38,7 \pm 2,9	41,0 \pm 2,1	40,0\pm1,3A	37,3 \pm 1,9	36,0 \pm 1,4	39,7 \pm 0,4	36,7 \pm 1,6	37,4\pm0,7A	38,5 \pm 2,6	38,3 \pm 1,5	39,2 \pm 1,3	38,8 \pm 1,5	38,7\pm0,7A
Media	33,1\pm0,6b	35,8\pm0,6a	33,9\pm0,6b	37,2\pm0,5a	35,0\pm0,3a	33,0\pm0,6a	30,8\pm0,7b	33,6\pm0,6a	33,4\pm0,6a	32,7\pm0,3β	33,0\pm0,4b	33,3\pm0,5b	33,8\pm0,4b	35,3\pm0,5a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años de estudio de acuerdo al LSD test.



Tabla XXI. Ingesta diaria recomendada (IDR) según varios autores así como cantidades ingeridas y el % que representan sobre las IDRs de K, P, S, Mg, Ca, Fe, Cu y Mn por el consumo de 150g de pan elaborado con 115g de harina de grano completo de *Triticum aestivum* L. tras la aplicación de los tratamientos con Zn (Control, Suelo, Foliar y Suelo+Foliar).

Elemento	IDR ¹ (mg)	IDR ² (mg)	IDR ³ (mg)	Ingesta ⁴							
				Control (mg)	Control (% IDR)	Suelo (mg)	Suelo (% IDR)	Foliar (mg)	Foliar (% IDR)	Suelo+Foliar (mg)	Suelo+Foliar (%IDR)
K	1600-3500	2000	2000	48,0	1,4-3,0	45,7	1,3-2,8	49,3	1,4-3,1	46,9	1,3-2,9
P	700	-	800	44,5	5,6-6,4	42,2	5,3-6,1	44,5	5,6-6,4	43,4	5,4-6,2
S	-	-	-	16,3	-	16,3	-	16,3	-	17,5	-
Mg	310-420	350	280-350	14,1	3,4-5,1	12,9	3,1-4,6	12,9	3,1-4,6	14,1	3,4-5,1
Ca	1000-1200	800	800	51,8	4,3-6,6	50,6	4,2-6,4	51,7	4,3-6,4	52,6	4,4-6,6
Fe	8-18	10	10-15	3,7	20,0-56,5	3,7	20,5-46,0	4,3	23,8-53,6	4,5	25,1-56,7
Cu	-	-	2-3	0,4	12,8-19,2	0,4	12,8-19,2	0,4	12,8-19,2	0,4	12,8-19,2
Mn	2	2-5	2-5	3,8	77-192	3,9	78,2-195,3	4,0	79,7-199,2	4,1	82,7-207

Fuente: ¹White y Broadley (2005a); ²García (2006); ³FAO/WHO (2000). ⁴Ingesta de nutrientes por consumo diario de 150 g pan establecidos para España y Portugal, según la FAO (2004), Fundación Española de la Nutrición (2007), FAO (2011b) e INE (2014).



9. Anejos Objetivo II



Tabla XXII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el contenido total de Zn en el grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Zn (mg kg ⁻¹)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	14 \pm 2	51 \pm 1	31 \pm 2	49 \pm 2	31 \pm 1	35 \pm 4BC
INIAV-4	17 \pm 1	44 \pm 4	32 \pm 2	44 \pm 3	28 \pm 1	33 \pm 3CD
INIAV-7	16 \pm 1	42 \pm 4	28 \pm 1	45 \pm 2	31 \pm 1	33 \pm 3D
INIAV-9	17 \pm 1	47 \pm 2	30 \pm 1	45 \pm 4	32 \pm 4	34 \pm 3CD
Nabão	20 \pm 2	49 \pm 3	32 \pm 2	51 \pm 6	33 \pm 2	37 \pm 4AB
Roxo	20 \pm 1	52 \pm 1	33 \pm 3	51 \pm 1	38 \pm 2	39 \pm 4A
Media	17\pm1c	48\pm1a	31\pm1b	47\pm1a	32\pm1b	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test.

Tabla XXIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el contenido de Zn acumulado por hectárea en el grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Zn (g ha ⁻¹)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	52 \pm 7	184 \pm 6	110 \pm 14	170 \pm 20	117 \pm 5	137 \pm 15AB
INIAV-4	44 \pm 5	142 \pm 15	108 \pm 7	158 \pm 16	107 \pm 4	112 \pm 12C
INIAV-7	61 \pm 2	145 \pm 2	105 \pm 3	161 \pm 11	115 \pm 11	117 \pm 11BC
INIAV-9	65 \pm 7	140 \pm 12	104 \pm 9	164 \pm 18	112 \pm 11	117 \pm 11BC
Nabão	57 \pm 6	130 \pm 1	86 \pm 9	172 \pm 18	111 \pm 6	111 \pm 12C
Roxo	66 \pm 4	165 \pm 12	112 \pm 16	180 \pm 6	147 \pm 2	134 \pm 13A
Media	57\pm2e	151\pm5b	104\pm4d	167\pm5a	118\pm4c	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test.



Tabla XXIV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre la producción de grano (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Producción grano (kg ha ⁻¹)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	3702 \pm 125A	3659 \pm 156A	3512 \pm 210A	3480 \pm 153	3743 \pm 121AB	3619 \pm 90A
INIAV-4	2653 \pm 157cC	3208 \pm 154bAB	3395 \pm 70abA	3592 \pm 216ab	3734 \pm 108aAB	3298 \pm 131B
INIAV-7	3739 \pm 132A	3465 \pm 181A	3755 \pm 109A	3564 \pm 163	3733 \pm 176AB	3651 \pm 86A
INIAV-9	3841 \pm 174aA	2952 \pm 103bBC	3478 \pm 284abA	3695 \pm 132a	3579 \pm 244aAB	3509 \pm 139A
Nabão	2873 \pm 150bBC	2667 \pm 150bC	2673 \pm 135bB	3389 \pm 161a	3355 \pm 157aB	2992 \pm 107C
Roxo	3266 \pm 159bB	3187 \pm 170bAB	3416 \pm 140bA	3539 \pm 189ab	3938 \pm 199aA	3469 \pm 100AB
Media	3331\pm125bc	3190\pm95c	3372\pm97bc	3543\pm70ab	3680\pm90a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.

Tabla XXV. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el peso de mil granos (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Peso de 1000 granos (g)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	40,6 \pm 0,1abB	42,7 \pm 0,1aB	39,2 \pm 0,4bB	42,1 \pm 0,4aA	40,8 \pm 0,2abA	41,3 \pm 0,5B
INIAV-4	39,8 \pm 0,1B	39,1 \pm 0,3C	37,9 \pm 0,1BC	38,5 \pm 0,5B	38,4 \pm 0,3B	38,7 \pm 0,3D
INIAV-7	41,2 \pm 0,1bB	44,9 \pm 0,1aA	37,0 \pm 0,1cdC	43,4 \pm 0,5abA	36,8 \pm 0,3dB	40,9 \pm 1,0B
INIAV-9	45,8 \pm 0,3A	45,0 \pm 0,3A	44,5 \pm 0,1A	44,7 \pm 0,1A	44,8 \pm 0,2A	44,8 \pm 0,4A
Nabão	32,7 \pm 0,1aC	31,4 \pm 0,3abD	28,8 \pm 0,3bD	31,7 \pm 0,3aC	30,4 \pm 0,2abC	31,0 \pm 0,5E
Roxo	41,4 \pm 0,3aB	41,3 \pm 0,2aB	38,1 \pm 0,2bBC	39,7 \pm 0,4abB	38,4 \pm 0,5bB	39,7 \pm 0,5C
Media	40,8\pm1,1a	40,7\pm1,2a	37,2\pm1,2c	40,0\pm1,1ab	38,3\pm1,1bc	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test. Cuando las letras no aparecen, no existieron diferencias significativas según el test de comparaciones múltiples.



Tabla XXVI. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el peso hectolitro (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Peso del hl (kg hl ⁻¹)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	84,4 \pm 0,7	84,5 \pm 0,3	83,9 \pm 2,2	84,2 \pm 0,6	84,5 \pm 1,1	84,3 \pm 0,1B
INIAV-4	82,8 \pm 0,7	82,8 \pm 0,3	82,7 \pm 1,0	83,2 \pm 0,9	82,1 \pm 0,4	83,1 \pm 0,2C
INIAV-7	81,5 \pm 0,7	82,2 \pm 0,7	82,2 \pm 1,2	82,4 \pm 0,7	82,6 \pm 0,8	82,1 \pm 0,1D
INIAV-9	82,1 \pm 0,5	82,2 \pm 1,0	81,5 \pm 0,4	82,5 \pm 1,2	82,1 \pm 1,2	82,1 \pm 0,2D
Nabão	83,7 \pm 1,2	84,3 \pm 0,7	83,5 \pm 0,4	84,5 \pm 0,8	84,2 \pm 0,7	84,1 \pm 0,2B
Roxo	85,1 \pm 1,1	85,5 \pm 1,4	84,9 \pm 1,3	85,0 \pm 0,2	84,4 \pm 0,8	85,3 \pm 0,2A
Media	83,6\pm0,4ab	83,5\pm0,3ab	83,2\pm0,3b	83,3\pm0,3ab	83,8\pm0,3a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test.

Tabla XXVII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el contenido proteico (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Proteína (%)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	9,5 \pm 0,1	9,8 \pm 0,1	9,5 \pm 0,4	9,7 \pm 0,4	10,3 \pm 0,2	9,7 \pm 0,1B
INIAV-4	8,6 \pm 0,1	8,7 \pm 0,3	9,1 \pm 0,1	9,4 \pm 0,5	8,9 \pm 0,3	8,9 \pm 0,1D
INIAV-7	9,1 \pm 0,1	9,3 \pm 0,1	8,9 \pm 0,1	9,9 \pm 0,5	9,3 \pm 0,3	9,3 \pm 0,1C
INIAV-9	9,0 \pm 0,3	8,7 \pm 0,3	8,8 \pm 0,1	9,5 \pm 0,0	8,5 \pm 0,2	9,1 \pm 0,1CD
Nabão	10,2 \pm 0,1	10,6 \pm 0,3	9,7 \pm 0,3	10,0 \pm 0,3	9,0 \pm 0,2	9,9 \pm 0,2B
Roxo	10,7 \pm 0,3	10,5 \pm 0,2	10,6 \pm 0,2	10,9 \pm 0,4	10,3 \pm 0,5	10,6 \pm 0,1A
Media	9,5\pm0,2bc	9,4\pm0,2c	9,7\pm0,2ab	9,4\pm0,2c	9,9\pm0,2a	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test.



Tabla XXVIII. Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el índice de sedimentación SDS (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	SDS (mm)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	54,3 \pm 0,4bcA	50,0 \pm 1,8bcB	59,0 \pm 2,2abA	51,0 \pm 0,4cdB	53,7 \pm 1,6bcA	53,6\pm1,1B
INIAV-4	49,7 \pm 1,5dB	47,3 \pm 0,7bcB	58,7 \pm 2,7abA	56,0 \pm 1,4bcA	57,3 \pm 0,1bcA	53,8\pm1,2B
INIAV-7	63,0 \pm 0,8aA	58,0 \pm 0,1aA	55,3 \pm 0,7cB	63,0 \pm 2,5aA	53,0 \pm 1,2bcB	58,5\pm1,0A
INIAV-9	50,3 \pm 1,1cdC	49,3 \pm 1,4cC	59,7 \pm 2,5abA	46,3 \pm 1,1dD	52,0 \pm 1,9cB	51,5\pm1,3B
Nabão	60,0 \pm 0,7abA	56,7 \pm 3,9abA	60,7 \pm 1,1abA	56,0 \pm 3,7bcA	60,7 \pm 3,7abA	58,8\pm1,1A
Roxo	60,3 \pm 1,4abA	56,7 \pm 2,2abB	62,3 \pm 1,9aA	55,3 \pm 1,1bcB	63,3 \pm 4,0aA	59,6\pm1,0A
Media	56,3\pm1,4abc	53,0\pm1,0c	59,3\pm0,8a	54,6\pm1,1bc	56,7\pm1,2ab	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test.

Tabla XXIX: Efecto de la variedad y de la aplicación de diferentes tratamientos de Zn y N (Control, Foliar, Foliar+N, Suelo+Foliar, Suelo+Foliar+N y Media), sobre el porcentaje de cenizas (media \pm error estándar), en cultivares de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en el año agrícola 2012/13.

Cultivar	Cenizas (%)					
	Control	Foliar	Foliar+N	Suelo+Foliar	Suelo+Foliar+N	Media
INIAV-1	1,53 \pm 0,03	1,50 \pm 0,03	1,50 \pm 0,04	1,58 \pm 0,01	1,39 \pm 0,02	1,48 \pm 0,02A
INIAV-4	1,43 \pm 0,01	1,45 \pm 0,02	1,45 \pm 0,02	1,43 \pm 0,02	1,39 \pm 0,04	1,42 \pm 0,01B
INIAV-7	1,44 \pm 0,02	1,49 \pm 0,01	1,39 \pm 0,04	1,44 \pm 0,03	1,39 \pm 0,01	1,42 \pm 0,02B
INIAV-9	1,38 \pm 0,05	1,42 \pm 0,01	1,42 \pm 0,03	1,45 \pm 0,01	1,34 \pm 0,04	1,40 \pm 0,02B
Nabão	1,40 \pm 0,02	1,46 \pm 0,03	1,46 \pm 0,03	1,43 \pm 0,01	1,33 \pm 0,02	1,40 \pm 0,02B
Roxo	1,59 \pm 0,07	1,51 \pm 0,01	1,51 \pm 0,01	1,45 \pm 0,05	1,42 \pm 0,05	1,49 \pm 0,02A
Media	1,46\pm0,02a	1,48\pm0,01a	1,43\pm0,01a	1,46\pm0,02a	1,33\pm0,02b	

Letras minúsculas diferentes en diferentes columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos de Zn de acuerdo al LSD test. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre cultivares de acuerdo al LSD test.