

CARACTERIZACION DE POBLACIONES ESPAÑOLAS DE *Lolium rigidum* Gaud., PARA CARACTERES AGRO-MORFOLOGICOS E ISOENZIMATICOS

J.A. OLIVEIRA

Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Apdo. 10. 15080 A Coruña
Dpto. de Producción Vegetal. Escola Politécnica Superior.
Universidad de Santiago. 27002 Lugo

J.E. LOPEZ

Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo.
Apdo. 15080. A Coruña

RESUMEN

Se caracterizaron en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (A Coruña) entre 1996 y 1997 diez poblaciones españolas de raigrás anual (*Lolium rigidum* Gaud.). Se aplicó un análisis de componentes principales con el fin de describir la variabilidad agro-morfológica. Las poblaciones mostraron una gran variabilidad para los caracteres agro-morfológicos e isoenzimáticos estudiados. La diversidad isoenzimática se evaluó mediante cinco loci. Una de las poblaciones de nuestro trabajo (Pontevedra) mostró una fecha de espigado y una producción de forraje más tardías que el testigo empleado, al igual que una parecida abundancia de inflorescencias, lo cual parece indicar una capacidad similar de producción de semilla y con ello de autoesembra de la pradera. Los parámetros estadísticos de genética de poblaciones fueron más altos que los citados en otras especies alógamas (número medio de alelos = 3,7 y heterocigosidad media esperada = 0,493). La diversidad genética se explicó sobre todo por el componente intrapoblacional. La diferenciación interpoblacional sólo explicó un 12% de la diversidad total. Se discute el uso de estos recursos genéticos.

PALABRAS CLAVE: Raigrás anual
Caracterización de recursos fitogenéticos
Isoenzimas
Genética de poblaciones

INTRODUCCION

Lolium rigidum es una gramínea forrajera espontánea, conocida como mala hierba de los cereales. Se cultiva también en zonas de clima mediterráneo, principalmente en el Sur de Australia e Italia para pastoreo invernal. Esta especie es alógama autoincompatible (Fearon *et al.*, 1993).

Es una especie muy polimorfa, en la cual Terrel (1968) reconoce al menos dos subespecies: *Lolium rigidum* *subsp. rigidum* muy extendido por la cuenca mediterránea y *Lolium*

Recibido: 16-9-98

Aceptado para su publicación: 3-5-99

rigidum subsp. *rottbolloides* limitado a las zonas costeras del Mediterráneo oriental. Su interés radica en la calidad del forraje, excelente adaptación al secano y capacidad de auto-resiembra. Interrumpiendo el pastoreo a partir del inicio del espigado (mediados de abril) la pradera se resemina para el año siguiente. Un ligero laboreo o el pisoteo posterior de los animales es suficiente para asegurar la siembra del próximo año, con el consiguiente ahorro en gastos de cultivo y protección del suelo. Se suele sembrar con leguminosas anuales del género *Medicago* (Delgado, 1996). En nuestro país su uso no ha llegado a generalizarse por considerarla en principio una planta que puede infectar los campos y tierras de labor. Podría ser empleada como un cultivo anual igual que el *Lolium multiflorum*, sembrada a finales de verano. Realiza la misma función práctica que el raigrás "westerwold" con la ventaja sobre aquel de soportar mejor el pastoreo, la sequía y ser menos exigente en fertilidad, y la desventaja de ser menos productivo (Muslera y Ratera, 1984). La escasa disponibilidad de gramíneas para pastoreo en zona mediterránea en el mercado internacional de semillas, reclama programas de evaluación de germoplasma local, con el fin de crear nuevas variedades adaptadas a las condiciones climáticas semiáridas mediterráneas (Porqueddu *et al.*, 1990; Franca *et al.*, 1996). Otras posibles aplicaciones de esta especie para usos no forrajeros son la estabilización de taludes en autopistas, vías férreas, cauces hidráulicos, la cubrición de vertederos y bocas de mina, la revegetación de espacios naturales deteriorados etc., por su gran capacidad de autoresiembra, y supervivencia en condiciones de estrés (baja fertilidad, sequía etc.) (Johnson *et al.*, 1992).

Este estudio pretende caracterizar una muestra de diez poblaciones de *Lolium rigidum* españolas, comparándolas con el cultivar "Wimmera" procedente de Australia.

MATERIAL Y METODOS

Material vegetal

Se utilizaron diez poblaciones de raigrás anual de la colección de gramíneas pratenses del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM). La procedencia de las poblaciones es la siguiente: Cádiz, Málaga, Granada, Gomera, La Palma, Ibiza, Mallorca, Zaragoza, Ourense y Pontevedra.

El estudio se realizó en el CIAM de A Coruña desde Noviembre de 1996 a Junio de 1997. El CIAM está situado en Mabegondo (43° 15' N, 8° 18' O) a 100 m de altitud y cercano a la costa.

Las poblaciones se distribuyeron en bloques al azar con cuatro repeticiones, siendo la parcela elemental una línea de 1m 50 cm de largo con siete plantas a 25 cm de separación y 80 cm entre las líneas. Se utilizó el cultivar "Wimmera" como testigo.

Como abonado de fondo se aplicó 40 kg/ha N, 120 kg/ha P₂O₅ y 200 kg/ha K₂O. Se anotaron los siguientes caracteres en plantas aisladas: AHB = anchura (mm), LHB = longitud (cm) de la hoja bandera en espigado y LES = longitud de espiga (cm). En líneas se anotaron los siguientes caracteres: POR = porte de la planta (1 = horizontal a 5 = vertical), FES = fecha de espigado en número de días desde el 1 de Enero, ALT = altura en floración (cm), ABI = abundancia de inflorescencias (1 = pocas a 9 = muchas), C1 y C2 = materia seca (g/m²) en cortes dados en Junio y Julio, respectivamente. La determinación de la materia seca se realizó en estufa de ventilación forzada a 80°C durante 24 h.

Análisis estadísticos

El modelo de análisis de varianza usado para los datos obtenidos en las plantas aisladas fue el siguiente:

$$X_{ijk} = \mu + B_i + G_j + BG_{ij} + e_{ijk} \quad [1]$$

Donde: μ es la media general, B_i es el efecto bloque, G_j es el efecto población, BG_{ij} es la interacción bloque población (error experimental) y e_{ijk} es el error (es decir el efecto intra parcela o efecto ambiente específico a la planta k de una parcela ij). El efecto bloque se consideró aleatorio.

Los datos obtenidos en las líneas se analizaron mediante el siguiente modelo:

$$X_{ij} = \mu + B_i + G_j + e_{ij} \quad [2]$$

En el caso de los caracteres cualitativos porte (POR) y abundancia de Inflorescencias (ABI) se utilizó el test de Kruskal-Wallis como método no paramétrico para evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones. Las relaciones multivariantes entre las poblaciones se estudiaron mediante un análisis en componentes principales usando una matriz de correlaciones derivada de los caracteres significativos tras el análisis de varianza. Sólo se consideraron los componentes principales con valores propios mayores de 1. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS (1994).

Isoenzimas

En cada una de las diez poblaciones se estudiaron aproximadamente 100 plantas mediante la técnica de electroforesis de isoenzimas en gel de almidón según Hayward y McAdam (1977), Ostergaard *et al.* (1985), Pollans y Allard (1985) y Greneche *et al.* (1991). Se utilizó un tampón histidina/citrato lo que permitió estudiar cinco sistemas enzimáticos, dando cinco loci: ácido fosfatasa (ACP, E.C. 3.1.3.2), isocitrato deshidrogenasa (IDH, E.C. 1.1.1.42), fosfogluco-isomerasa (PGI, E.C. 5.3.1.9.), fosfogluco-mutasa (PGM, E.C. 2.7.5.1.) y shikimato deshidrogenasa (SKD, E.C. 1.1.1.25). La nomenclatura alélica y los procedimientos isoenzimáticos fueron los de Hayward *et al.* (1995).

Las frecuencias alélicas se determinaron por conteo directo. Se estimaron una serie de parámetros estadísticos estándar para caracterizar la variabilidad genética de las poblaciones usando el programa BIOSYS 1 (Swofford y Selander, 1981). Se calcularon los siguientes parámetros estadísticos: número medio de alelos por locus (A), heterocigosidad media observada (H_0) y la heterocigosidad media esperada en panmixia (H). Se calcularon los índices de fijación de Wright (1965) siguientes: F_{IT} , representa el déficit relativo de heterocigotos en la población total (las 10 poblaciones combinadas), F_{IS} que representa el déficit relativo de heterocigotos por población (media de las 10 poblaciones), ambos parámetros cuando hay un exceso de heterocigotos se vuelven negativos y viceversa para valores mayores, y F_{ST} , que es el índice de fijación y representa el nivel de diferenciación de las poblaciones, es equivalente al D_{ST} de Nei (1977).

RESULTADOS

Análisis de varianza

En la Tabla 1 se presentan las medias y los resultados principales del análisis de varianza aplicado a los caracteres cuantitativos del estudio. La mayoría de los caracteres presentaron un efecto población muy significativo. Consecuentemente se considerarán en este trabajo cada población caracterizada por las medias de dichos caracteres. En el caso de los caracteres cualitativos (porte y abundancia de inflorescencias) el test no paramétrico de Kruskal-Wallis no mostró diferencias estadísticamente significativas para la abundancia de inflorescencias. Para el porte se encontraron diferencias significativas al nivel de significación del 1%. Aunque por término medio el comportamiento de "Wimmera" fue bastante bueno, hubo alguna población (Pontevedra) que se comportó mejor que dicho testigo en el caso de la producción en materia seca en el 2º corte (Tabla 2).

TABLA 1

MEDIAS Y RESULTADOS PRINCIPALES DEL ANALISIS DE VARIANZA DE SIETE CARACTERES AGRO-MORFOLOGICOS CUANTITATIVOS MEDIDOS EN MABEGONDO (N.O. DE ESPAÑA)

Means and main results of the ANOVA of seven agro-morphological quantitative characters measured at Mabegondo (N.W. Spain)

Caracteres	Poblaciones		Testigo Wimmera	Cuadrados medios		
	Media	Media	Media	Bloque	Población	Bloque * Población
C1	40,80	52,12	2685,5NS	13268,8***		
C2	20,33	29,86	68,8NS	1321,7***		
FES	25/IV	11/IV	21,7NS	503,1***		
ALT	112,45	117,00	147,7NS	441,3*		
LHB	7,97	10,65	6,2NS	118,1***		10,9***
AHB	5,47	7,20	38,6***	31,1***		2,2***
LES	23,69	25,26	6,4NS	186,0***		17,5NS

(* , ** , *** = Significativo al 5, 1 y 0,1 %, respectivamente, NS = no significativo). C1 = Producción de materia seca (g/m²) en corte de junio 1997, C2 = Producción de materia seca (g/m²) en corte de julio 1997, FES = Fecha de espigado en día del mes, LHB = Longitud de hoja bandera (cm), AHB = Anchura de hoja bandera (mm), ALT = Altura en floración (cm), LES = Longitud de espigas (cm).

(* , ** , *** = Significant at 0.05, 0.01 and 0.001 level respectively, NS = not significant). C1 = Dry matter production (g/m²), cut of June 1997, C2 = Dry matter production (g/m²), cut of July 1997, FES = Heading date in day of month, LHB = Flag leaf length (cm), AHB = Flag leaf width (mm), ALT = Flowering height (cm), LES = Spike length (cm).

TABLA 2
RANGOS DE VARIACION (VALORES MEDIOS DE MAYOR A MENOR) DE UNA COLECCION DE DIEZ
POBLACIONES DE *Lolium rigidum* MAS UN TESTIGO (WIMMERA) PARA NUEVE CARACTERES
AGRO-MORFOLOGICOS EVALUADOS

Range of variation (from the highest to the lowest mean values) of a collection of ten Lolium rigidum populations and a control (Wimmera) for nine agro-morphological characters evaluated

C1	C2	FES	POR	ABI	LHB	AHB	ALT	LES
Granada 52,1 a	Pontev. 50,7 a	Pontev. 18/V a	Zarag. 5,0	Wimm. 7,0	Ibiza 12,0 a	Pontev. 7,5 a	Zarag. 136,0 a	Granada 31,3 a
Wimm. 52,0 a	Ibiza 32,8 b	Ibiza 11/V b	La Palma 5,0	Ibiza 7,0	Pontev. 11,4 a	Wimm. 7,2 a	Cádiz 131,0 ab	Zarag. 29,6 ab
Cádiz 48,4 ab	Wimm. 29,6 b	Ourense 3/V c	Cádiz 5,0	Pontev. 5,0	Wimm. 10,6 a	La Palma 6,3 b	Gomera 125,0 ab	Ourense 27,1 b
Zarag. 48,0 ab	Mallor. 24,2 b	Mallor. 29/IV cd	Wimm. 5,0	Cádiz 4,0	Mallor. 8,2 b	Granada 6,1 b	Wimm. 117,0 abc	Wimm. 25,3 bc
Ourense 44,6 ab	Málaga 22,9 b	Málaga 27/IV d	Ourense 4,5	Mallor. 4,0	La Palma 7,3 bc	Gomera 6,0 b	Granada 114,0 abcd	La Palma 23,9 c
La Palma 44,1 ab	La Palma 0,0 c	Cádiz 14/IV e	Granada 4,5	Gomera 4,0	Cádiz 7,2 bc	Ourense 5,4 c	La Palma 114,0 abcd	Cádiz 22,9 cd
Ibiza 37,2 bc	Cádiz 0,0 c	Zarag. 11/IV ef	Málaga 4,0	La Palma 3,0	Granada 7,2 bc	Zarag. 5,1 c	Ourense 110,5 abcd	Gomera 21,8 cde
Gomera 37,0 bc	Ourense 0,0 c	Wimm. 11/IV ef	Gomera 4,0	Ourense 3,0	Zarag. 7,2 bc	Cádiz 5,1 c	Málaga 110,0 abcd	Pontev. 21,7 cde
Pontev. 35,5 c	Zarag. 0,0 c	Gomera 10/IV ef	Mallor. 3,7	Zarag. 2,0	Málaga 6,7 cd	Ibiza 4,9 c	Pontev. 105,0 bcd	Málaga 20,5 def
Mallorca 35,0 c	Gomera 0,0 c	Granada 10/IV ef	Ibiza 3,5	Málaga 1,0	Gomera 6,5 cd	Mallor. 4,1 d	Mallor. 91,5 cd	Mallor. 19,5 ef
Málaga 29,6 c	Granada 0,0 c	La Palma 7/IVf	Pontev. 3,5	Granada 1,0	Ourense 6,0 d	Málaga 4,0 d	Ibiza 87,5 d	Ibiza 18,5 f

C1 = Producción de materia seca (g/m²) en corte de junio 1997, C2 = Producción de materia seca (g/m²) en corte de julio 1997, FES = Fecha de espigado en día del mes, POR = Porte de la planta (1 = horizontal a 5 = vertical), ABI = Abundancia de inflorescencias (1 = pocas a 9 = muchas), LHB = Longitud de hoja bandera (cm), AHB = Anchura de hoja bandera (mm), ALT = Altura en floración (cm), LES = Longitud de espigas (cm). Las medias de los caracteres cuantitativos se compararon mediante el test de Duncan. Las medias seguidas de diferentes letras fueron significativamente diferentes al nivel del 5%.
 C1 = *Dry matter production (g/m²), cut of June 1997, C2 = Dry matter production (g/m²), cut of July 1997, FES = Heading date in day of month, POR = Habit (1 = horizontal to 5 = vertical), ABI = Inflorescence abundance (1 = low to 9 = high) LHB = Flag leaf length (cm), AHB = Flag leaf width (mm), ALT = Flowering height (cm), LES = Spike length (cm). Means of quantitative characters were compared using the Duncan test. Means followed by different letter were significantly different at 5%.*

Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales (Tabla 3) mostró que el primer componente (CP1) explicó el 61% de la variación total, y estuvo muy correlacionado positivamente con la producción en materia seca en el 2º corte (mes de Julio), la longitud de la hoja bandera, la fecha de espigado y negativamente con la altura en floración. Estos resultados indican una alta correlación entre todos estos caracteres. El segundo componente (CP2) explicó un menor porcentaje de la variación total, siendo la anchura de la hoja bandera el carácter con más peso. La variación de la producción en materia seca del primer corte (mes de Junio) y la longitud de espigas se explicó parcialmente por las dos primeras componentes. La Figura 1 muestra la distribución de las poblaciones con relación a los dos primeros componentes (los únicos que presentaron valores propios mayores de 1). Como se puede observar la población de Pontevedra presentó la fecha de espigado más tardía y la mayor producción en el 2º corte, debido a situarse en la parte superior derecha del gráfico (caracteres correlacionados positivamente con el componente 1). Por el contrario las poblaciones de Granada, Cádiz, Zaragoza, Ourense y La Palma mostraron la mayor producción de materia seca en el 1º corte, debido a situarse en la parte inferior derecha del gráfico (carácter correlacionado negativamente con el componente 1).

TABLA 3

COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE SIETE CARACTERES AGROMORFOLOGICOS CUANTITATIVOS MEDIDOS EN DIEZ POBLACIONES DE LOLIUM RIGIDUM EVALUADAS EN MABEGONDO Y LOS DOS PRIMEROS EJES OBTENIDOS AL APLICAR EL ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Correlations between seven quantitative agro-morphological characters measured in ten populations of Lolium rigidum evaluated at Mabegondo and the first two axes of a principal component analysis

Componentes Principales		
Caracteres	CP1	CP2
FES	0,895	0,003
LHB	0,884	0,261
AHB	0,133	0,902
C1	-0,712	0,507
C2	0,984	0,041
ALT	-0,789	0,261
LES	-0,680	0,542
Valor propio	4,27	1,40
% Variación acumulada	61,0	80,9

C1 = Producción de materia seca (g/m²) en corte de junio 1997, C2 = Producción de materia seca (g/m²) en corte de julio 1997, FES = Fecha de espigado en días a partir del 1 de Enero, LHB = Longitud de hoja bandera (cm), AHB = Anchura de hoja bandera (mm), ALT = Altura en floración (cm), LES = Longitud de espigas (cm).

C1 = Dry matter production (g/m²), cut of June 1997, C2 = Dry matter production (g/m²), cut of July 1997, FES = Heading date, days after January the first, LHB = Flag leaf length (cm), AHB = Flag leaf width (mm), ALT = Flowering height (cm), LES = Spike length (cm).

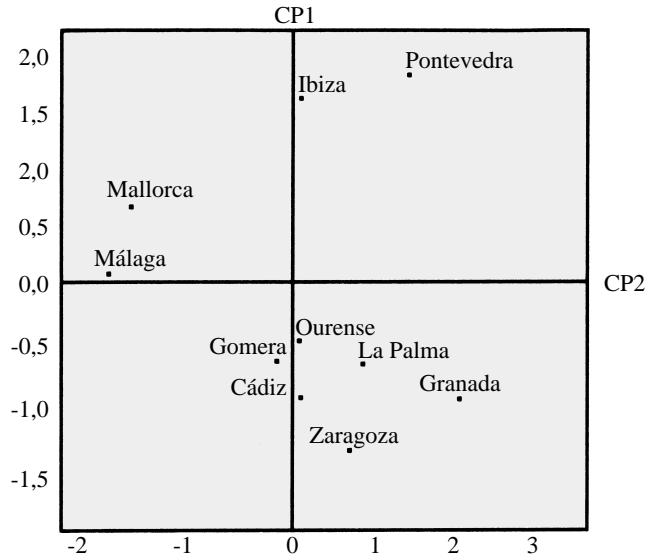


Fig. 1.—Distribución de diez poblaciones de *Lolium rigidum* sobre los dos primeros componentes (CP1 y CP2) obtenidos al aplicar un análisis de componentes principales para siete caracteres agro-morfológicos
Distribution of ten populations of Lolium rigidum on the two first components (CP1 and CP2) obtained by means of a principal component analysis for seven agro-morphological characters.

Análisis isoenzimático

En la Tabla 4 se resumen los índices de diversidad poblacionales. El número medio de alelos por locus y las heterocigosidades medias encontradas en esta muestra de poblaciones de *Lolium rigidum* fueron respectivamente: $A = 3,7$, $H_O = 0,407$ y $H = 0,493$. Todos los sistemas isoenzimáticos utilizados fueron polimórficos. Se encontraron un total de 22 alelos (siete alelos para PGI2, cuatro para ACP2, IDH1 y PGM1, y tres para SKD1). De los 22 alelos, 16 se pueden considerar comunes muy distribuidos según la clasificación de Brown (1978) con frecuencias entre 7,6% y 70,7%, uno (PGI2-60) como raro pero muy distribuido (frecuencia media menor de 5%, pero presente en más de la mitad de las poblaciones) y cinco (PGI2-10, PGI2-45, ACP2-50, IDH1-50 y PGM1-10) como raros y esporádicos. Tres alelos de esta última categoría alcanzan una frecuencia de 5% o más en al menos una población, mientras los otros tienen una frecuencia muy baja de menos del 2%. Los valores medios de los índices de fijación de Wright para cada locus se dan en la Tabla 5. Los índices de fijación son más bajos para PGI2 y PGM1 en comparación con los otros loci, mostrando que las poblaciones están más próximas al equilibrio panmítico para esos loci. Los loci ACP2, IDH1 y SKD1 mostraron unos índices F_{IS} y F_{IT} más altos, indicando una menor presencia de heterocigotos. El valor medio de diferenciación interpoblacional (F_{ST}) fue de 0,104. La proporción de diversidad entre poblaciones con relación a la diversidad total se puede expresar como $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ (Nei, 1977). En este estudio sería $0,104 / 0,896 = 0,12$, es decir, sólo el 12% de la diversidad genética total para los cinco loci estudiados se debe a la diferenciación entre poblaciones.

TABLA 4

PARAMETROS DE VARIABILIDAD GENETICA PARA CINCO LOCI EN DIEZ POBLACIONES DE *Lolium rigidum*, INCLUYENDO EL NUMERO MEDIO DE ALELOS POR LOCUS (A), HETEROCIGOSIS OBSERVADA (H_O) Y HETEROCIGOSIS ESPERADA (H)

Parameters of genetic variability at five loci in ten populations of Lolium rigidum, including average number of alleles per locus (A), observed heterozygosity (H_O) and expected heterozygosity (H)

Poblaciones	A	HO	H
Cádiz	3,2	0,129	0,276
Gomera	3,2	0,333	0,437
La Palma	4,0	0,400	0,541
Málaga	3,4	0,476	0,497
Granada	4,2	0,273	0,427
Ibiza	4,0	0,357	0,516
Pontevedra	3,8	0,556	0,584
Zaragoza	3,6	0,508	0,576
Ourense	3,4	0,585	0,569
Mallorca	3,8	0,459	0,512
Media	3,7	0,407	0,493
Error estándar	0,5	0,071	0,053

TABLA 5

INDICES DE FIJACION DE WRIGHT

Wright's fixation indices

Loci	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
PGI2	0,037	0,199	0,169
ACP2	0,310	0,344	0,049
IDH1	0,285	0,369	0,118
SKD1	0,193	0,272	0,099
PGM1	0,038	0,107	0,072
Media	0,169	0,255	0,104

DISCUSION

Las poblaciones locales de gramíneas recogidas en España muestran frecuentemente un amplio intervalo de variabilidad, teniendo características especiales de adaptación en una región determinada (Piñeiro y Pérez, 1986; Oliveira *et al.*, 1997a, 1997b; Ansón *et al.* 1998). Por ejemplo, Ansón *et al.* (1998) en poblaciones locales de *Lolium rigidum* de Aragón encontraron una mejor adaptación a las condiciones de los secanos de Aragón que el cultivar Wimmera empleado como testigo.

En nuestro estudio, las poblaciones locales de *Lolium rigidum* tuvieron por término medio una menor producción de forraje en condiciones de secano-húmedo (Mabegondo) en comparación con el cultivar Wimmera. Este resultado está de acuerdo con el estudio realizado por Ansón *et al.* (1998) en el que las poblaciones locales de *Lolium rigidum* de Aragón tuvieron menor producción de forraje en regadío que Wimmera. En cambio en ese estudio se vio que su producción de forraje se asemejó a la de Wimmera en secano.

Una de las poblaciones de nuestro trabajo (Pontevedra) mostró una fecha de espigado y una producción de forraje más tardías (corte en el mes de Julio) que Wimmera, al igual que una abundancia de inflorescencias parecida a la de Wimmera, lo cual parece indicar una capacidad similar de producción de semilla y con ello de autoresiembrade de la pradera. Trabajos realizados por Johnson *et al.* (1992) en Túnez mostraron el interés de poblaciones locales de *Lolium rigidum* para su uso en revegetación de suelos alterados y con poca fertilidad. Para poder comprobar el uso potencial de la población de Pontevedra en revegetación de suelos alterados sería necesario evaluarla sobre la base de su rapidez de establecimiento, persistencia y capacidad de autoresiembrade en esas condiciones. Otras poblaciones (Granada, Cádiz, Zaragoza, Ourense y La Palma) presentaron fechas de espigado y producción de materia seca en el corte de Junio similares al cultivar Wimmera. El hecho de espigar primero que la población de Pontevedra, tiene la consecuencia negativa de reducir el período óptimo de aprovechamiento de la pradera y ver mermada la persistencia de la pradera en las condiciones de Mabegondo (clima Atlántico), pero en cambio en un clima más árido (Mediterráneo) sería positivo al producir semilla antes del período de sequía. En condiciones de clima árido con primaveras poco húmedas, la población de Pontevedra debido a su ciclo más tardío, probablemente no llegaría a producir semilla o muy poca.

Los índices de diversidad A (3,7), y H (0,493) de este estudio son mayores a los obtenidos por Hamrick y Godt (1990) en especies alógamas con polinización anemófila. Nuestros índices de diversidad también son algo mayores que los citados por varios autores en diferentes especies del género *Lolium* (Charmet *et al.* 1993; Loos, 1994; Oliveira *et al.*, 1997a; Balfourier *et al.* 1998). Estos resultados están de acuerdo con la hipótesis de Charmet y Balfourier (1994) de que *Lolium rigidum* es la especie del género *Lolium* con más diversidad, y que podría ser la especie más primitiva del género, a partir de la cual se pudieron originar las demás especies.

El valor medio de F_{IS} (0,169) es comparable con los valores reseñados por Hayward y McAdam (1977) en cultivares de *L. perenne* y Oliveira *et al.* (1997a) en poblaciones españolas y francesas de raigrás inglés. Estos valores bajos permiten concluir que las poblaciones están próximas al equilibrio panmítico.

El hecho de que la mayoría de la diversidad genética total se deba al componente intrapoblacional está de acuerdo con el trabajo de Hamrick y Godt (1990). Esto sugiere que con vistas a la conservación de recursos fitogenéticos, el muestreo de pocas poblaciones puede ser suficiente para preservar la mayor parte de la variabilidad debiendo tener en cuenta a la hora de planificar la recolección las diferencias ecogeográficas que puedan existir dentro de una región o entre regiones. Para evitar los efectos de la deriva se deben utilizar tamaños de población altos.

En nuestro trabajo se observó una gran variabilidad agro-morfológica para la mayoría de los caracteres estudiados, apareciendo grupos de poblaciones con características distintivas. Así las poblaciones de Ibiza y Pontevedra son las que presentaron fechas de espigado y producciones de materia seca más tardías. Estas poblaciones podrían tener interés en zonas de clima Atlántico debido a su ciclo más tardío. Otro grupo de poblaciones for-

mado por las de Zaragoza, Granada, Cádiz, Ourense, La Palma y Gomera, en cambio, presentaron fechas de espigado y producciones de materia seca más precoces. Estas poblaciones, parecería que estarían más adaptadas a las condiciones de clima Mediterráneo debido a su ciclo más precoz. Finalmente las poblaciones de Mallorca y Málaga presentaron características intermedias.

Hasta ahora la mayor utilización de las colecciones de germoplasma había sido la obtención de variedades para una agricultura intensiva; en la actualidad hay una necesidad de promover el uso de estas colecciones para obtener variedades para una agricultura de bajos insumos (low-input), y para usos alternativos (campos de deporte, de esparcimiento, revegetación de suelos deteriorados etc.) en línea con los objetivos de la Política Agraria Comunitaria de aumento de las posibilidades de utilización de zonas marginales y de valorización del paisaje.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los Señores Enrique Correal de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua del CIDA de Murcia, Ignacio Delgado Enguita del Servicio de Investigación Agroalimentaria de Aragón e Hipólito Medrano de la Universitat de les Illes Balears el envío de algunas muestras de *Lolium rigidum* utilizadas en este estudio.

SUMMARY

Characterisation of Spanish populations of *Lolium rigidum* Gaud., for agro-morphological and isoenzymatic characters

Ten accessions of annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) collected in Spain were evaluated at Mabegondo (A Coruña). Populations showed a high variability for morphologic, agronomic and isoenzymatic characters. Principal component analysis was carried out to describe agro-morphological variability. One of the populations (Pontevedra) showed later heading date and herbage production than Wimmera, and also the same inflorescence abundance than Wimmera. This may indicate a similar seed yield that is in fact a basic characteristics of a self-reseeding species. Populations were screened for allozyme diversity at five loci. Population genetic statistics were higher than those previously reported for other outbreeding species (mean number of alleles = 3.7 and mean expected heterozygosity = 0.493). Genetic diversity was mainly explained by the within population component. The between population differentiation only accounted for 12% of the whole diversity. The use of these genetic resources is discussed.

KEY WORDS: Annual ryegrass
Germplasm evaluation
Isoenzymes
Population genetics

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANSON S., DELGADO I., MUÑOZ F., 1998. Valoración forrajera de las poblaciones de *Lolium rigidum* Gaud. del valle del Ebro. Actas de la XXXVIII Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (SEEP), Soria, pp. 185-188.
- BALFOURIER F., CHARMET G., RAVEL C., 1998. Genetic differentiation within and between natural populations of perennial and annual ryegrass (*Lolium perenne* and *Lolium rigidum*). Heredity 81: 100-110.

- BROWN A.H.D., 1978. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theor. Appl. Genet.* 52: 145-157.
- CHARMET G., BALFOURIER F., RAVEL C., 1993. Isozyme polymorphism and geographic differentiation in a collection of French perennial ryegrass populations. *Genetic Resources and Crop Evolution* 40: 77-89.
- CHARMET G., BALFOURIER F., 1994. Isozyme variation and species relationships in the genus *Lolium* L. (ryegrasses, Gramineae). *Theor. Appl. Genet.* 87: 641-649.
- DELGADO I., 1996. Opción forrajera a los malos secanos cerealistas. *Agricultura* 765: 295-297.
- FEARON C.H., HAYWARD M.D., LAWRENCE M.J., 1983. Self incompatibility in ryegrass. V. Genetic control in diploid *Lolium multiflorum*. *Heredity* 50: 35-45.
- FRANCA A., FARA G.F., LEDDA L., PORQUEDDU C., CAREDDA S., 1996. Agronomic evaluation of annual ryegrass populations for the semi-arid environments. Proceedings of the Grassland and Land Use Systems 16th E.G.F. Meeting., pp. 87-90.
- GRENECHE M., LALLEMAND J., MICHAUD O., 1991. Comparison of different enzyme loci as a means of distinguishing ryegrass varieties by electrophoresis. *Seed Sci. Technol.* 19: 147-158.
- HAMRICK J.L., GODT M.J.W., 1990. Allozyme diversity in plant species. En: A.D.H. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir (eds). *Plant Populations Genetics, Breeding, and Germplasm Resources*, Massachusetts, Sunderland, 43-63.
- HAYWARD M.D., DEGENNARS G.H., BALFOURIER F., EICKMEYER F., 1995. Isozyme procedures for the characterisation of germplasm, exemplified by the collection of *Lolium perenne* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 42: 327-337.
- HAYWARD M.D., MCADAM N.J., 1977. Isozyme polymorphism as a measure of distinctiveness and stability in cultivars of *Lolium perenne*. *Z. Pflanzenzucht* 79: 59-68.
- JOHNSON D.E., BORMAN M.M., BEN-ALI M.N., ALI-BEN MN., 1992. Evaluation of plant species for land restoration in Central Tunisia. *Journal of Arid Environments* 22 (4): 305-322.
- LOOS B.P., 1994. Allozyme differentiation of European populations and cultivars of *Lolium perenne* L., and relation to ecogeographical factors. *Euphytica* 80: 49-57.
- MUSLERA E., RATERA C., 1984. Praderas y forrajes: Producción y aprovechamiento. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 702 pp.
- NEI M., 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human. Genet.* 41: 225-233.
- OLIVEIRA J.A., BALFOURIER F., CHARMET G., ARBONES E., 1997a. Isozyme polymorphism in a collection of Spanish and French perennial ryegrass populations. *agronomie* 17: 335-342.
- OLIVEIRA J.A., LINDNER R., BREGU R., GARCIA A., GONZALEZ A., 1997b. Genetic diversity of westerworld ryegrass landraces collected in Northwest Spain. *Genetic Resources and Crop Evolution* 44: 479-487.
- OSTERGAARD H., NIELSEN G., JOHANSEN H., 1985. Genetic variation in cultivars of diploid ryegrass, *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum*, at five enzyme systems. *Theor. Appl. Genet.* 69: 409-421.
- PIÑEIRO J., PEREZ M., 1986. El interés agronómico de ecotipos españoles de plantas pratenses. *Pastos* 44 (1): 103-118.
- POLLANS N.O., ALLARD R.W., 1985. Inheritance of electrophoretically detectable variants in ryegrass. *J. of Heredity* 76: 61-62.
- PORQUEDDU C., ROGGERO P. P., BULLITTA S., VERONESI F., 1990. Evaluation and characterization of a sardenian population of *Lolium rigidum* Gaud. Proc of European Grassland Federation. Banska Bystrica (Tchécoslovaquie), 444-445.
- SAS INSTITUTE, 1994. SAS/STAT procedures. SAS Technical report. SAS Institute Inc, Carry, NC.
- SWOFFORD D.L., SELANDER R.B., 1981. BIOSYS 1: A Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. of Heredity* 72: 281-283.
- TERREL E., 1968. A taxonomic revision of the genus *Lolium*. *Techn. Bull. US Dept. Agric.* 1392, 65.
- WRIGHT S., 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating. *Evolution* 19: 395.