

2

TRABAJOS CIENTÍFICOS

VARIABILIDAD DEL ECOTIPO DE ALFALFA 'TIERRA DE CAMPOS'

A. FOMBELLIDA VILLAFRUELA

Departamento de Producción Vegetal y Silvopascicultura. Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. Avda. de Madrid, 57. E-34004 Palencia (España)
e-mail: afv@pvs.uva.es

RESUMEN

La alfalfa es el cultivo forrajero más extendido en la comarca de Tierra de Campos. Se cultiva habitualmente en secano, con aprovechamiento mediante siega para heno y mediante pastoreo de los rebrotes, destinándose parte de superficie a la producción de semilla para uso propio. Esta forma de manejo, en este ambiente, a lo largo de los años, ha originado un tipo de alfalfa conocido con el nombre de 'Tierra de Campos'. La introducción en la comarca de alfalfas flamencas para su multiplicación, junto con un mayor intercambio de semilla han contaminado el ecotipo. Con el presente trabajo se pretende contribuir al estudio de su variabilidad. Se inició en 1992, con una prospección en las zonas más habituales de cultivo de alfalfa en Tierra de Campos, recogándose 56 muestras de semilla, que se estudiaron en laboratorio, invernadero y campo; en este caso en dos condiciones diferentes: secano y regadío, a lo largo de tres años. En laboratorio se midió la dureza, el tamaño y el peso de la semilla. En invernadero se recogieron datos de la velocidad de crecimiento en estado de plántula. En campo se evaluó el rebrote, velocidad de crecimiento, color de la flor, fecha de floración y persistencia. Junto con las muestras se sembraron como testigos alfalfas de diferente precocidad, algunas de rebrote tardío, como Europe, y otras de rebrote precoz, como CUF-101. Con los datos recogidos se realizó un análisis Cluster, encontrándose que solo el 62 % de las muestras correspondían a las características del ecotipo 'Tierra de Campos', y que el resto estaban mezcladas o eran de otra procedencia. Finalmente, se ha realizado un análisis discriminante, utilizando los datos de todos los caracteres, para saber cuales de estos pueden identificar mejor al ecotipo, habiendo destacado la persistencia, el rebrote primaveral y la velocidad de crecimiento. Se llegó a la conclusión que el ecotipo 'Tierra de Campos' está bastante contaminado, pues el 38 % de las muestras evaluadas no responden a las características del mismo, siendo necesario intervenir cuanto antes para conservar sus características. Los caracteres que mejor sirven para definir el ecotipo son:

rebrote primaveral, velocidad de crecimiento, fecha de floración, ritmo de crecimiento de la plántula y persistencia.

Palabras clave: *Medicago sativa*

INTRODUCCIÓN

La comarca de Tierra de Campos ocupa parte de las provincias de Palencia, Valladolid, Zamora y León (Figura 1). Es una extensa planicie de clima continental y suelos pesados. El aprovechamiento agrícola está basado principalmente en el cultivo de cereales de invierno. El tipo de ganadería predominante es la de ovino de leche en régimen extensivo. A pesar de que la cabaña ganadera es muy numerosa, el cultivo de forrajes no ha alcanzado proporcionalmente el mismo desarrollo. Aunque es habitual el pastoreo de alfalfares de secano, principalmente de otoño a primavera, en la alimentación del ganado sigue teniendo mucha importancia el aprovechamiento de rastrojos, barbechos y eriales. Dentro del cultivo forrajero destaca la alfalfa, que en secano es habitual que tenga un triple aprovechamiento: heno, pasto y semilla. Esta forma de manejo, en este ambiente, a lo largo de los años, ha originado un tipo de alfalfa conocido con el nombre de 'Tierra de Campos'.

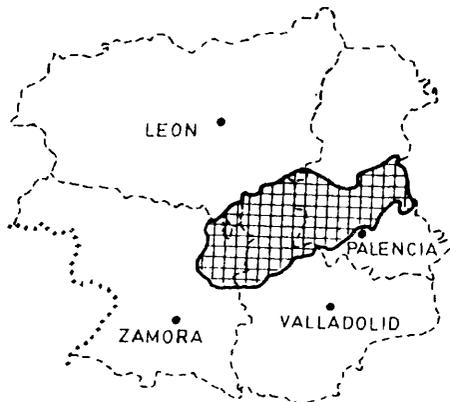


FIGURA 1

Situación geográfica de la comarca de Tierra de Campos

Geographic location of the Tierra de Campos area

El ecotipo originario de esta comarca muestra alta variabilidad de sus caracteres, dando lugar a falta de homogeneidad en cuanto a producción y morfología de las plantas (Muslera y Ratera, 1991). Esta variabilidad aumentó como consecuencia de la escasa protección que ha tenido y de la introducción de nuevas variedades, principalmente flamencas, en la segunda mitad del Siglo XX, que se cruzaron con la original de la zona (Cordero y Crespo, 1995), lo que conlleva un riesgo de desaparición del ecotipo por una contaminación creciente en el proceso de multiplicación de semilla de poblaciones mezcladas.

Con este trabajo se pretende contribuir al estudio de la variabilidad del ecotipo de alfalfa 'Tierra de Campos', así como a determinar las características más adecuadas para su identificación, con el objetivo de disponer de una herramienta que permita localizar las poblaciones mezcladas y evitar el proceso creciente de contaminación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se inició y realizó a partir de semillas recogidas en 1992 en zonas de la comarca de Tierra de Campos donde se cultiva tradicionalmente alfalfa en secano. Se recogieron 56 muestras, que se relacionan en la Tabla 1. Para su estudio se utilizaron los caracteres morfológicos, fisiológicos y agronómicos que figuran en la literatura sobre identificación de alfalfas (Hycka, 1964; Hidalgo, 1966; Delgado, 1988; Cordero y Crespo, 1995; Morales, 1998; Crochemore *et al.*, 1998; Pecetti *et al.* 1999).

Para su inclusión como testigos se utilizaron los ecotipos y variedades de alfalfa proporcionados por la Asociación para la Investigación y Mejora de la Alfalfa (AIMA), y que son los siguientes, de menor a mayor precocidad: 'Europe', 'Verdal', 'Tierra de Campos', 'Aragón', 'Sprinter', 'Moapa', 'Baraka' y 'Cuf-101', así como otras cuatro variedades proporcionadas por un productor de semilla, recogidas en alfalfares de la comarca, y que son: 'Cinna', 'Romagnola', 'Milfeuil' y 'Aragón'. En total se evaluaron 68 muestras.

El estudio se llevó a cabo en diferentes medios: laboratorio, invernadero y campo, analizándose en cada uno de ellos una parte de los caracteres a estudiar. La relación de caracteres estudiados y el número de veces que se realizó se recogen en la Tabla 2.

En el laboratorio se analizó el peso, tamaño y dureza de la semilla. Se recogieron las vainas de forma individualizada de las parcelas de secano. Una vez secadas en el laboratorio a temperatura ambiente, a las dos semanas de la recolección se trillaron y se determinó el peso de 1000 semillas contando, con un contador de granos, cinco veces diferentes muestras de 200 semillas. La distribución de la semilla por tamaños se hizo

TABLA 1
Origen de las muestras de alfalfa recogidas en la comarca
Sampling sites

ZONA	MUNICIPIO	Nº MUESTRA
VILLALÓN	Ceinos	1
	Villacid	2, 3, 4, 5
	Cuenca	6, 7
	Castroponce	28, 37
	Villanueva de la Condesa	29, 31
	Bustillo de Chaves	30
	Villagómez	32, 33
	Vega de Ruiponce	34
	Villacarralón	35, 36
	Melgar de Arriba	56
VILLADA	Villacidaler	8, 9, 15
	Boadilla de Rioseco	54
PAREDES	Arconada	10
	Villanueva del Rebollar	11, 17
	Villatoquite	13, 19, 39, 42
	Revenga	41
	Añoza	43
	Villalcazar de Sirga	50
	Becerril	55
VILLARRAMIEL	Villarramiel	12, 24, 27, 38, 40, 68
	Capillas	14, 25
	Mazariegos	16
	Abarca	26
	Villerrías	52
	Meneses	53
	MEDINA DE RIOSECO	Medina de Rioseco
Pozuelo de la Orden		22
Villafrechós		49
VILLALPANDO	S. Agustín del Pozo	21
	Villafáfila	44, 45
	Revellinos	46
	S. Esteban del Molar	47
	Cerecinos	48

Testigos [variedad (número)]: Cinna (23), Europe (57), Verdal (58), Tierra de Campos (59), Aragón (60), Sprinter (61), Moapa (62), Baraka (63), Cuf-101 (64), Romagnola (65), Aragón (66), Milfeuil (67)

utilizando sucesivamente tamices de 1,40 y 1,60 mm de luz, partiendo de muestras de 1000 semillas de todas las muestras. Para la determinación del número de semillas duras se realizaron pruebas de germinación, siguiendo las Normas ISTA (International Seed Testing Association; MINISTERIO DE AGRICULTURA, 1976). Por cada muestra se utilizaron tres placas de Petri de 50 semillas cada una, se introdujeron en cámara de germinación a 20 °C , realizándose conteos a los 4 y 10 días.

Aquellos caracteres de la plántula difíciles de medir en campo se evaluaron en invernadero. El estudio se hizo en la primavera y otoño de 1994, con el fin de observar

TABLA 2
Relación de caracteres estudiados y número de veces que se evaluaron cada año
List of studied characters and frequency of assessment per year

	AÑO 1993		AÑO 1994		AÑO 1995		AÑO 1996	
	SEC.	REG.	SEC.	REG.	SEC.	REG.	SEC.	REG.
PLANTA								
Rebrote primaveral (A11)		1	1	1	1	1	1	
Velocidad de crecimiento antes 1 ^{er} corte (A12, A13)		2	2	2	2	1	1	
Velocidad de crecimiento (A2,A3, A4, A5)	1 (A5)	5	4	4	4		2	1 (A5)
Color de la flor		1	1	1	1			
Fecha de floración		1	1	1	1			
Nº de plantas							1	1
PLÁNTULA								
		Prim	otoño					
Velocidad de germinación		1	1					
Aparición hoja primaria		1	1					
Aparición 1ª hoja trifoliada		1	1					
Aparición 2ª hoja trifoliada		1	1					
Aparición 3ª hoja trifoliada		1	1					
Aparición 1ª ramificación		1	1					
Tamaño hoja primaria		1	1					
SEMILLA								
Tamaño							1	
Peso							1	
Dureza							1	

SEC: secano. REG: regadío. A11: primera altura antes del primer corte. A12: segunda altura antes del primer corte. A13: tercera altura antes del primer corte. A2: altura antes del segundo corte. A3: altura antes del tercer corte. A4: altura antes del cuarto corte. A5: rebrote otoñal. prim : primavera

la respuesta de las plantas a las condiciones ambientales de cada época. El diseño y seguimiento del ensayo fue idéntico en ambos casos. Se utilizaron semillas de tamaño homogéneo, con el fin de que éste no afectara al vigor de la plántula. Posteriormente se escarificó la semilla en un mortero tapizado con papel de lija del Nº 00. Se siguió un diseño estadístico de bloques al azar con tres repeticiones, sembrándose 8 semillas de cada muestra por cada repetición (Delgado, 1989). La siembra se realizó el 3 de febrero y el 15 de octubre de 1994. Se evaluaron los siguientes caracteres: velocidad de germinación, fechas de aparición de la hoja primaria, primera, segunda y tercera hoja trifoliada y longitud y anchura de la hoja primaria (L/A). Esta última determinación se

realizó cogiendo las hojas primarias una vez había aparecido la tercera hoja trifoliada y colocándolas en láminas engomadas cubiertas con plástico transparente, según procedimiento seguido por Delgado (1988). Las mediciones se hicieron en el laboratorio.

En campo, tanto en secano como en regadío, se sembraron todas las muestras y los testigos. El diseño estadístico elegido fue el de bloques al azar con tres repeticiones, estando formada la parcela elemental por 20 plantas, distribuidas en dos filas de 10, a un marco 0,70 m entre líneas y de 0,50 m entre plantas de una misma línea. Las parcelas estaban separadas por pasillos de 0,80 m.

El ensayo de campo de regadío se estableció en marzo de 1992, el de secano en el mismo mes de 1993. Ambos se hicieron en la finca de Viñalta (Palencia). La altitud es de 740 m y la precipitación media anual de 400 mm. El suelo es de textura franco-arcillosa, pH 8,3, pobre en materia orgánica y contenido medio en fósforo y potasio. La preparación del suelo se realizó con arado de vertedera, seguido de dos pases de cultivador y un pase de rastra. Entre los dos pases de cultivador se realizó el abonado de fondo, con 24, 72 y 48 kg/ha, respectivamente, de N, P₂O₅ y K₂O. La vegetación adventicia (principalmente *Lolium multiflorum*, *Papaver rhoeas*, *Capsella bursa-pastoris*, *Taraxacum*, sp.) se controló mediante escarda manual el primer año y, posteriormente, mediante tratamiento en parada vegetativa con Hexazinona, a razón de 1,2 kg/ha. En primavera se trató contra gusano negro (*Colaspidea atrum*) y pulgón (*Aphis medicaginis*), utilizando Carbaril (3 kg/ha) e Imidacloprid (0,5 L/ha), respectivamente.

Los datos se tomaron en plantas individuales y sobre todas las plantas de cada una de las parcelas, como recomiendan Hidalgo (1966) y Márquez *et al.* (1999), cuando se trata de estudiar diferencias en un mismo ecotipo. Las determinaciones comenzaron a hacerse a partir del segundo año, al tratarse de una especie perenne que el primer año tiene un escaso desarrollo (Hycka, 1983). El rebrote primaveral se estimó midiendo la altura de cada planta al inicio del crecimiento. Para la velocidad de crecimiento antes del primer corte se utilizó el dato anterior además de otras dos mediciones individuales de la altura de cada planta, una tomada inmediatamente antes del corte (inicio de la floración), y otra en un momento intermedio entre las dos anteriores, en total tres valores de altura. El dato que se usó para el estudio estadístico de este carácter fue la pendiente de la recta obtenida con estos tres valores. La velocidad de crecimiento se evaluó periódicamente antes de cada corte, midiendo una vez la altura de todas las plantas. Todas las alturas se midieron con cinta métrica, desde el suelo hasta donde confluyen la mayor parte de los tallos. Para la floración se anotó la fecha de floración de cada una de las plantas cuando había al menos dos flores abiertas en dos inflorescencias. La persistencia se determinó contando

las plantas supervivientes al final del ensayo (año 1996).

Dado el elevado número de muestras que hay que evaluar y la gran cantidad de datos recogidos de cada una de ellas, se ha optado por comenzar clasificándolas en grupos. Para ello se ha realizado un análisis Cluster, utilizando el método de Ward. Yamada y Suzuki (1975), Crochemore *et al.* (1998), Skinner *et al.* (1999) y Pecetti *et al.* (1999), siguieron un procedimiento semejante para estudiar amplias colecciones del género *Medicago*.

Como la variación existente dentro de una población de alfalfa puede ser muy amplia, incluso superior a la que se puede encontrar entre diferentes poblaciones, como demostraron Crochemore *et al.* (1998) utilizando marcadores moleculares, y teniendo en cuenta que se han tomado datos individuales de cada planta, para evitar que plantas de una misma muestra queden en grupos diferentes, a la hora de la clasificación se ha utilizado como valor de cada muestra la media de todas las plantas de las tres repeticiones.

Una vez decidida la agrupación, se ha procedido a caracterizar cada grupo, analizando independientemente cada uno de los caracteres estudiados. Se realizó el análisis de la varianza para cada carácter, considerando los datos de cada uno como medidas repetidas en el tiempo de una misma planta, con los factores muestra (conjunto de plantas de una parcela), repetición, año y ciclo para cada una de las dos formas de cultivo en campo (secano y regadío), o las dos épocas del ensayo en invernadero (otoño y primavera). No se utilizaron los datos individuales de cada planta sino los valores medios de cada parcela.

Por último, mediante análisis discriminante se buscaron los caracteres que más han influido en la clasificación, así como la distancias entre grupos y la concordancia entre ambas agrupaciones (la obtenida mediante análisis Cluster y la obtenida mediante análisis discriminante). El análisis se ha hecho utilizando los datos de todos los caracteres. La aplicación del análisis discriminante con este fin la podemos encontrar en Rumbaugh *et al.* (1988); Cordero y Crespo (1995) y Dehghan-Shoar *et al.* (1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El dendrograma obtenido con el análisis Cluster se presenta en la Figura 2. En él es posible distinguir claramente cuatro grupos. En el grupo 1 están los ecotipos y variedades de rebrote primaveral más precoz, junto con 5 muestras recogidas en la comarca. El grupo 2 es el más numeroso, con 35 muestras de la comarca y el testigo 'Tierra de Campos'. En el grupo 3 se incluyen 9 muestras de la comarca. Por último, el

grupo 4 es el formado por los ecotipos y variedades de rebrote más tardío y 7 muestras de la comarca (Tabla 3).

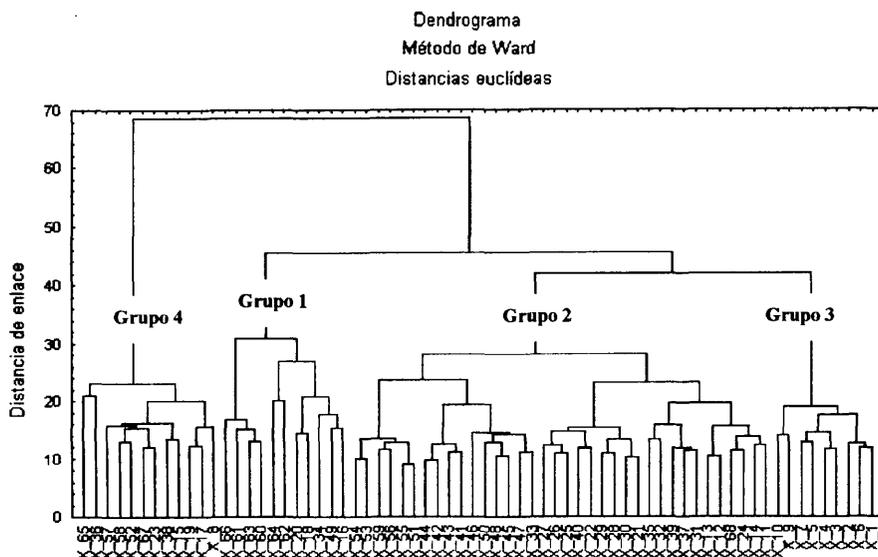


FIGURA 2

Dendrograma del análisis Cluster de las muestras de alfalfa de Tierra de Campos

Cluster analysis dendro-graph of the Tierra de Campos alfalfa samples

El 62 % de las muestras, las agrupadas con el testigo 'Tierra de Campos' (grupo 2), responden a las características del ecotipo, es decir, son de ciclo semiprecoz, de rebrote primaveral, y tras el corte, más lento que las alfalfas tipo Aragón y resistentes al frío invernal (Cordero y Crespo, 1995). El resto de las muestras no responden a los caracteres anteriores, encontrándose repartidas, aunque no por igual, por toda la comarca, lo que prueba la contaminación que ha existido por la introducción de nuevos tipos de alfalfa, y que no ha sido debido a una respuesta de adaptación al medio, como ya señalaron Cordero y Crespo (1995). El grupo 3 presenta características intermedias entre el ecotipo 'Tierra de Campos' y las alfalfas flamencas, aunque predominan las del primero, pues tanto el rebrote primaveral como el posterior al corte fue inferior al del grupo 2, y la distribución de colores de la corola fue semejante al del ecotipo 'Tierra de Campos'. En el grupo 4 se incluyen las muestras de menor precocidad de rebrote y con menos flores de color violeta oscuro.

TABLA 3

Distribución de las muestras estudiadas clasificadas en 4 grupos según el análisis Cluster

Sample distribution in 4 groups after Cluster Analysis

ZONA	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
VILLALON	34	28, 29, 30, 31, 32, 33, 35, 37, 56	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	36
VILLADA		54	9	8, 15
PAREDES		11, 13, 39, 41, 42, 43, 50, 55	10	17, 19
VILLARRAMIEL	16	12, 14, 24, 25, 26, 27, 40, 53, 68		38, 52
M. de RIOSECO	18, 20, 49	51, 22		
VILLALPANDO		21, 44, 45, 46, 47, 48		
TESTIGOS	Aragón (60), Sprinter, Moapa, Baraka, Cuf-101, Aragón (66)	Tierra de Campos		Cinna, Europe, Verdal, Romagnola, Milfeuil
TOTAL MUESTRAS DE TIERRA DE CAMPOS	5 (9 %)	35 (62 %)	9 (16 %)	7 (12 %)
TOTAL TESTIGOS	6	1	0	5

Las cinco muestras recogidas en la comarca que forman parte del grupo 1, pueden ser el resultado de la mezcla de alguna alfalfa, probablemente 'Aragón', con 'Tierra de Campos'.

El grupo 3 también es un claro ejemplo de la contaminación del ecotipo. Por su comportamiento, parece que procede del cruzamiento de la alfalfa de 'Tierra de Campos' y alfalfa de origen flamenco. Esto ha ocurrido en el 16 % de las muestras recogidas, en su mayor parte procedentes de la zona de Villalón, donde años atrás se sembraron variedades de tipo flamenco, para la producción de semilla. No es de extrañar, pues, que sean las muestras recogidas en esta zona las que hayan mostrado mayor grado de contaminación, y que puede que ésta sea la razón fundamental.

Un 12 % de las muestras (grupo 4) tiene características semejantes a las alfalfas tardías de origen flamenco. Las diferencias con el ecotipo 'Tierra de Campos' son tan

netas, que nos inducen a pensar que en el caso de ser resultado de mezcla, la presencia del ecotipo es muy pequeña.

El grupo 1 fue el que tuvo mayor rebrote primaveral y mayor velocidad de crecimiento tras el corte. En el grupo 2, tanto el rebrote primaveral como la velocidad de crecimiento, sobre todo en los últimos cortes, fue inferior al anterior; destacó por tener la menor tasa de mortandad. La precocidad del grupo 3 fue inferior a la de los grupos 1 y 2, además de tener la menor persistencia. El grupo 4 fue el de menor precocidad y menor velocidad de crecimiento tras el corte, sobre todo a partir del tercero.

Realizando el Análisis Discriminante solamente con los datos de secano, cuatro han sido las variables que recogen más variabilidad: altura A11, altura A13, altura A3 y persistencia. Con estas cuatro variables clasificaríamos correctamente el 76,47 % de las muestras. (Tabla 4).

TABLA 4

Matriz de clasificación correspondiente al ensayo en secano, tras haber aplicado el análisis discriminante

Classification matrix under rainfed conditions, after performing discriminant analysis

GRUPO (SECANO)	Muestras correctamente clasificadas con las 4 variables utilizadas en el Análisis Discriminante		GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	TOTAL
	Discriminante (%)						
1	72,72		8	2*	1*	0	11
2	77,77		1*	28	4*	3*	36
3	55,55		0	3*	5	1*	9
4	91,66		0	1*	0	11	12
TOTAL	76,47		9	34	10	15	

Nota: El * indica el número de muestras cuya clasificación inicial no coincide con la del Análisis Discriminante y, de acuerdo con este, el grupo al que deberían pertenecer.

El grupo 4 es el que más se distancia de todos los demás, sobre todo del 1. Los más próximos son el 2 y el 3 (Tabla 5).

TABLA 5

Distancias entre medias de grupos en secano

Distances among group means under rain-fed conditions

GRUPO (SECANO)	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3		GRUPO 4	
	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p
1	0,00	---	5,78	0,0001	9,34	0,0001	24,69	0,0001
2	5,78	0,0001	0,00	---	3,04	0,0001	10,20	0,0001
3	9,34	0,0001	3,04	0,0001	0,00	---	15,72	0,0001
4	24,69	0,0001	10,20	0,0001	15,72	0,0001	0,00	---

En el ensayo de regadío las variables que más discriminan son: altura A13, altura A2 y altura A3. Con estas tres variables clasificaríamos correctamente el 72,05 % de las muestras. El grupo 4 es el que nuevamente obtiene mayor porcentaje de acierto. En el grupo 1 es donde, utilizando solamente estas tres variables, cometeríamos más errores en la clasificación de muestras. (Tabla 6).

TABLA 6

Matriz de clasificación correspondiente al ensayo en regadío, tras haber aplicado el análisis discriminante

Classification matrix in irrigated conditions, after performing discriminant analysis

GRUPO (REGADÍO)	Muestras correctamente clasificadas con las tres variables utilizadas en el Análisis Discriminante (%)	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	TOTAL
1	45,45	5	3 *	3 *	0	11
2	69,44	8 *	25	2 *	1 *	36
3	88,88	0	1 *	8	0	9
4	91,66	0	1 *	0	11	12
TOTAL	72,05	13	30	13	12	

Nota: El * indica el número de muestras cuya clasificación inicial no coincide con la del Análisis Discriminante y, de acuerdo con este, el grupo al que debieran pertenecer.

En regadío, por lo general, se han atenuado las diferencias entre grupos. No obstante queda nuevamente desmarcado el grupo 4 con respecto a los demás.

TABLA 7

Distancias entre medias de grupos en regadío

Distances among group means under irrigation

GRUPO (REGADÍO)	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3		GRUPO 4	
	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p
1	0,00	---	2,14	0,002	3,79	0,002	23,03	0,0001
2	2,14	0,002	0,00	---	3,85	0,0001	14,75	0,0001
3	3,79	0,002	3,85	0,0001	0,00	---	13,51	0,0001
4	23,03	0,0001	14,75	0,0001	13,51	0,0001	0,00	---

Cuando se ha hecho el análisis utilizando todos los datos, nueve han sido las variables que más han servido para discriminar: de seco, altura A11 y altura A13; de regadío, altura A1, altura A2, altura A3, altura A4 y persistencia, además de las dimensiones de la hoja primaria del ensayo en invernadero. Utilizando estas nueve variables la coincidencia entre la clasificación inicial y la obtenida con el Análisis Discriminante es del 91,04 % (Tabla 8).

TABLA 8
Matriz de clasificación utilizando todos los datos, tras haber aplicado el análisis discriminante

Classification matrix using all data, after performing discriminant analysis

GRUPO	Muestras correctamente clasificadas con las 9 variables utilizadas en el Análisis Discriminante (%)	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	TOTAL
1	81,81	9	2 *	0	0	11
2	94,44	1 *	34	1 *	0	36
3	77,77	0	1 *	7	1 *	9
4	100,00	0	0	0	12	12
TOTAL	91,04	10	37	8	12	

Nota: El * indica el número de muestras cuya clasificación inicial no coincide con la del Análisis Discriminante y, de acuerdo con este, el grupo al que debieran pertenecer.

La mayor distancia se obtuvo entre los grupos 1 y 4, los más próximos fueron 2 y 3. Las distancias entre un grupo y sus adyacentes siempre fueron menores que con los demás (Tabla 9).

TABLA 9
Distancias entre medias de grupos usando todos los datos

Distances among group means using all data

GRUPO	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3		GRUPO 4	
	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p	DISTANCIA	p
1	0,00	---	15,26	0,0001	28,64	0,0001	63,93	0,0001
2	15,26	0,0001	0,00	---	9,76	0,0001	26,54	0,0001
3	28,64	0,0001	9,76	0,0001	0,00	---	24,69	0,0001
4	63,93	0,0001	26,54	0,0001	24,69	0,0001	0,00	---

CONCLUSIONES

Los resultados analizados en el presente artículo permiten concluir que

- La alfalfa cultivada en Tierra de Campos tiene un grado de contaminación que alcanzó al 38 % de las muestras analizadas, superior al encontrado por Cordero y Crespo en 1995, lo que indica que la contaminación es importante y que puede aumentar con el paso del tiempo.
- Los parámetros más importantes para determinar que una muestra responde al ecotipo 'Tierra de Campos' son: altura de la planta y persistencia. En ensayos de secano hay que medir la altura al inicio de la estación de crecimiento, mientras que en regadío hay que hacerlo en pleno período vegetativo

- Parece aconsejable alguna política concreta de la Administración que evite el aumento de la contaminación, con objeto de que se mantenga el ecotipo con sus características iniciales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORDERO, A.; CRESPO, M., 1995. Caracterización del ecotipo de alfalfa Tierra de Campos. *Pastos*, **12** (2), 57-86.
- CROCHEMORE, M.; HUYGHE, C.; ECALLE, C.; JULIER, B., 1998. Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers. *Agronomie*, **18**(1), 79-94.
- CROCHEMORE, M., 1998. *Variabilidade genética da alfalfa. Marcadores agromorfológicos e moleculares*. Instituto Agronômico do Paraná. Boletim Técnico Nº 58. Brasil.
- DEGHAN-SHOAR, M.; HAMPTON J.G.; GARDINER S.E., 1997. Genetic analysis among and within populations forming ecotypes and cultivars of lucerne, *Medicago sativa*, using RAPD fragments. *Plant Systematics and Evolution*, **208**(1-2), 107-119
- DELGADO, I., 1989. *Estudio de la variabilidad de las mielgas aragonesas en áreas de precipitación inferior a 600 mm anuales*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, 169 pp. Madrid (España).
- HIDALGO, F., 1966. *Clasificación de las alfalfas españolas*. Asociación para la Investigación y Mejora de la Alfalfa. Zaragoza (España).
- HYCKA M., 1964. Posibilidades de clasificación de los ecotipos de alfalfas españolas. V Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Pamplona-Jaca (España).
- HYCKA M., 1983. Alfalfa en el secano; variedades. *Anales Aula Dei*.
- MARQUEZ ORTIZ J.J.; LAMB J.F.S.; JOHNSON L.D.; BARNES D.K.; STUCKER R.E., 1999. Heritability of crown traits in alfalfa. *Crop Science*, **39**(1), 38-43.
- MORALES R., 1998. Utilización de sistemas isoenzimáticos (PGI, PGM e IDH) en la diferenciación de variedades comerciales de alfalfa (*Medicago sativa* L.). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid (España).
- MUSLERA, E.; RATERA, C., 1991. *Praderas y forrajes*. 2ª edición. Ed. Mundi-Prensa., 674 pp. Madrid (España)
- PECETTI, L.; PIANO, E.; VALENTINI, P.; ROMANI, M., 1999. Phenotypic variation and germoplasm discrimination in lucerne (*Medicago sativa* complex) as evidenced by multivariate analysis. *Journal Genetic & Breeding*, **(53)**, 37-45.
- RUMBAUGH M. D.; GRAVES W.L.; CADDEL J.C.; MOHAMMAD R.M., 1988. Variability in a collection of alfalfa germoplasm from Marocco. *Crop Science*, **28**, 605-609.
- SKINNER D.Z.; BAUCHAN G.R.; AURICHT G.; HUGHES S., 1999. A method for the efficient management and utilization of large germoplasm collections. *Crop Science*, **39**(4), 1237-1242.
- YAMADA T.; SUZUKI S., 1975. Classification of alfalfa cultivars by the clustering method based on quantitative characters, its significance in the introduction and conservation of genetic resources. En: *Gene Conservación Japanese Com. for the International Biological Program. Volume 5, 137-145*. Ed. T. MATSUO.

VARIABILITY IN THE 'TIERRA DE CAMPOS' (NORTH-CENTRAL SPAIN) ALFALFA ECOTYPE

SUMMARY

Alfalfa is the most widespread forage crop in Tierra de Campos (North-Central Spain), where is grown under rain-fed conditions for hay, regrowth grazing and as a home-grown seed crop. The prevailing growing conditions in the area have led to the development of an ecotype called 'Tierra de Campos'. The aim of our research work was to study the present variability in the ecotype 'Tierra de Campos'. 56 samples were collected in the most significant alfalfa growing areas, which were later studied in field trials, under both irrigation and rain-fed conditions, for a period of three years. Several commercial varieties with varying re-growth rates were used as controls. After Cluster analysis of the data gathered, it was observed that only 62 % of samples showed the 'Tierra de Campos' ecotype characteristics while the remaining samples were mixed or had a different origin. Thus, not only the level of contamination is currently fairly high but it is likely to increase further in the near future. Finally, a discriminant analysis was performed. Discriminant functions were calculated for the groups identified by the cluster analysis with a view to determine the traits best identifying the ecotype. Spring regrowth, rate of growth, flowering date and persistency came up on top.

Key words: *Medicago sativa*.