

EVALUACIÓN NACIONAL DE CULTIVARES
PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE CEBADA CERVECERA

DICIEMBRE DE 2013

SUMARIO

PARTE I: REQUISITOS PARA LA INSCRIPCIÓN EN EL REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES

PARTE II: INFORMACIÓN GENERAL

1. Direcciones de referencia
2. Revisión
3. Distribución de los ensayos y fechas de siembra
4. Ensayos con control de enfermedades
5. Evaluación sanitaria de cultivares inscritos en el Registro Nacional de Cultivares
6. Solicitud de ingreso de cultivares a la Red de Ensayos de Evaluación y envío de muestras
7. Requerimientos de semilla
8. Manejo de las muestras de semilla
9. Visita a los ensayos

PARTE III: PROTOCOLO DE ENSAYOS

10. Diseño experimental
11. Guía general de manejo de ensayos
12. Tratamiento de la semilla
13. Guía de manejo de ensayos
14. Recolección de datos
15. Procesamiento de datos

PARTE IV: ANEXOS

- I. Recolección de datos
- II. Metodología
- III. Formulario para el envío de muestras

PARTE I. REQUISITOS PARA LA INSCRIPCIÓN EN EL REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES

Los cultivares de cebada deberán ser evaluados durante tres años. Se podrán inscribir en el Registro Nacional de Cultivares cuando complete la evaluación o de forma concomitante a partir del tercer año de la Evaluación Nacional de Cultivares y deberán completar dicha evaluación. Estos años podrán ser consecutivos, o saltar un único año durante el período que dure la evaluación.

PARTE II. INFORMACIÓN GENERAL

1. Direcciones de referencia

Instituto Nacional de Semillas | INASE
Cno. Bertolotti s/n y Ruta 8 Km 29
Barros Blancos, Canelones, Uruguay
CP: 91000
Tel: (+598) 2288 7099
Fax: (+598) 2288 7077

Ing. Agr. Daniel Bayce (coordinación)
Correo electrónico: dbayce@inase.uy

Ing. Agr. M.Sc. Virginia Olivieri | Evaluación y Registro de Cultivares
Correo electrónico: volivieri@inase.uy

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria | INIA
INIA La Estanzuela
Ruta 50, Km 11, Colonia
CP: 70000
Tel.: (+598) 4574 8000
Fax: (+598) 4574 8000

Ing. Agr. Ph.D. Marina Castro | Coordinadora Evaluación de Cultivares
Correo electrónico: mcastro@inia.org.uy

2. Revisión

Este protocolo se revisará cuando surjan situaciones que lo ameriten. El Comité Técnico Mixto INASE-INIA (CTM) podrá acordar ajustes a realizarse durante la ejecución de los ensayos frente a imprevistos.

3. Distribución de los ensayos y fechas de siembra

En las siguientes fechas aproximadas y localidades se sembrarán dos ensayos en el mismo día: sin control de enfermedades y con control de enfermedades.

	1 y más años de evaluación	2 y más años de evaluación
LA ESTANZUELA	5/6	-
DOLORES	15/5	-
YOUNG	10/6	-
MERCEDES	-	20/6
OMBÚES DE LAVALLE	-	5/7
PAYSANDÚ	-	10/7

4. Ensayos con control de enfermedades

Los tratamientos a la totalidad del ensayo iniciarán con la aparición de los primeros síntomas de enfermedad, en cualquiera de los cultivares. El fungicida elegido dependerá de la o las enfermedades predominantes. Los tratamientos se repiten cada 21 días hasta el inicio de la floración.

Si hasta la elongación no se presentan enfermedades, se hará una aplicación preventiva contra Ramularia, y luego se continuarán cada 21 días.

5. Evaluación sanitaria de los cultivares inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares

Conjuntamente con cada uno de los ensayos se sembrarán parcelas de todos los cultivares inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares que no estén presentes en el ensayo. A estos cultivares se les realizará únicamente la evaluación sanitaria.

6. Solicitud de ingreso de cultivares a la Red de Ensayos de Evaluación y envío de muestras

La solicitud de ingreso de cultivares a la Red de Ensayos de Evaluación deberá ser presentada en la Sede Central de INASE, acompañada de la muestra y el formulario para el envío de muestras correspondiente.

El formulario (Anexo III) requiere una breve descripción de los cultivares.

La fecha límite de entrega de las muestras a INASE será el 15 de abril de cada año.

7. Requerimientos de semilla

7.1. La cantidad mínima de semilla requerida anualmente es de 2,5 kg de cada cultivar en el primer año de evaluación, y 5 kg para cultivares en dos y más años de evaluación.

7.2. La calidad mínima de las muestras enviadas a evaluar deberá ajustarse a los estándares establecidos para la semilla Categoría Básica.

Las muestras deberán estar libres de plagas.

7.3. La semilla deberá enviarse sin ningún tipo de tratamiento químico.

7.4. Las muestras de semilla provenientes del exterior deberán cumplir con los requisitos de importación según lo establecido en las normas vigentes.

8. Manejo de muestras de semilla

Las muestras de semilla serán usadas sólo a los efectos de los ensayos de evaluación.

Una vez sembrados, la semilla remanente quedará a disposición de la empresa remitente. En caso de no reclamarla será destruida finalizado el período de siembras.

9. Visita a los ensayos

Todo interesado en recorrer los ensayos deberá coordinar su visita con el coordinador del cultivo y comunicar a INASE la fecha y hora prevista de la visita. Los planos de campo de los ensayos serán de uso restringido a personal de INASE e INIA involucrado en la Evaluación Nacional de Cultivares.

Anualmente se realizará un "Día de Campo" para poder apreciar el estado de los ensayos y el comportamiento de los cultivares.

PARTE III. PROTOCOLO DE ENSAYOS

10. Diseño experimental.

Se utilizarán bloques completos al azar o bloques incompletos (alfa-látice) con 2 repeticiones.

11. Guía general de manejo de los ensayos

La elección del lugar, establecimiento del ensayo, seguimiento, recolección de datos y cosecha serán de responsabilidad del técnico coordinador de cada ensayo.

El predio deberá reunir condiciones de uniformidad de suelo, ausencia de malezas de difícil control, etc., así como fácil acceso para facilitar el seguimiento.

12. Tratamiento de la semilla

La semilla de todos los cultivares será tratada con curasemillas usuales.

13. Guía de manejo de ensayos

13.1. Siembra

En La Estanzuela y Paysandú la preparación de tierra se realizará acorde con las prácticas comunes para el cultivo de cebada cervecera para permitir una germinación uniforme.

En las demás localidades la siembra se realizará en directa.

La instalación de ensayos se realizará sembrando parcelas de borde a cada lado.

13.2. Tamaño de parcela

Las parcelas tendrán una superficie aproximada de 5,5 m², sembradas en 6 o 7 surcos, dependiendo de la sembradora utilizada.

13.3. Densidad de siembra

Se utilizará una densidad de siembra de 250 semillas viables. m⁻², corregida por germinación, peso de mil semillas y pureza.

13.4. Uso de testigos

Se incluirán cultivares comerciales de amplia difusión como testigos.

13.5. Fertilización

La fertilización con fósforo de los ensayos se realizará de acuerdo a los resultados de análisis de P_{Bray}. El manejo de la fertilización con nitrógeno se realizará siguiendo las recomendaciones que figuran en las Tablas 1, 2 y 3, teniendo en cuenta el resultado del análisis de potencial de mineralización de nitrógeno (PMN). La interpretación de los resultados de PMN se realizará según la siguiente categorización propuesta por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Agua de INIA La Estanzuela:

Bajo PMN	< 30 mg/kg N-NH ₄
Medio PMN	30-55 mg/kg N-NH ₄
Alto PMN	> 55 mg/kg N-NH ₄

Tres momentos clave de ajuste de nitrógeno:

SIEMBRA	N-NO ₃ en suelo(0-20cm).
Z 2.2	N-NO ₃ en suelo(0-20cm).
Z 3.0	N (%) en planta.

Tabla 1. Ajuste de la fertilización nitrogenada a la siembra

N-NO ₃ suelo (ppm)	Recomendación Kg N/ha
< 6	30
6 – 8	30
8 –10	20
11 – 13	10
14 – 16	5
16 – 18	0
> 18	0

Fuente: Perdomo, C., Hoffman, E., Pons, C., Pastorini, M., 1999.

Tabla 2. Ajuste de la fertilización nitrogenada a Z 2.2

N-NO3 suelo (ppm)	Recomendación Kg N/ha
<= 8	35
9	27
10	18
11	9
>= 12	0

Fuente: Perdomo, C., Hoffman, E., Pons, C., Pastorini, M., 1999.

El momento de aplicación será determinado de acuerdo al promedio de estado fisiológico de los materiales más precoces.

Tabla 3. Ajuste de la fertilización nitrogenada a Z 3.0

Nitrógeno en planta (%)	Recomendación Kg N/ha
<= 3.25	35
3.25	35
3.50	30
3.70	20
3.90	10
>= 4.10	0

Fuente: Baethgen, 1992.

13.6. Control de malezas

Se extremarán las medidas para mantener los ensayos libres de malezas.

13.7. Control de plagas

Los ensayos deberán estar libres de plagas. Se realizará control de pájaros.

13.8. Cosecha

Para la determinación de rendimiento en grano se utilizará toda el área de la parcela.

La cosecha se realizará contemplando las diferencias de ciclo de los cultivares dentro de cada ensayo.

13.9. Poscosecha

Las muestras limpias se enviarán al Laboratorio de Calidad de Granos de INIA para las determinaciones previstas.

14. Recolección de datos

Las características de los cultivares que deberán ser registradas figuran en Anexo I, siguiendo la metodología prevista en el Anexo II.

15. Procesamiento de datos

Análisis estadísticos de rendimiento a realizar:

- a cada ensayo individual.
- conjunto anual (todas las localidades y épocas), considerando los ensayos con control de enfermedades, por un lado, y los sin control, por otro.
- conjunto para los tres últimos años (misma agrupación que en el punto anterior).

Se utilizará la metodología de "mínimos cuadrados" recomendada para el análisis de series de datos desbalanceados, Patterson, H. D., 1978.

También se reportarán las características agronómicas, sanitarias y calidad física e industrial de los ensayos del año.

PARTE IV. ANEXOS
ANEXO I. DATOS A RECOLECTAR
1. Características agronómicas

	LE (*)	Young	DMO
Fecha de emergencia del ensayo	X	X	X
% de implantación	S0	S0	S0
Porte	X	X	
Ciclo (en días de emergencia a espigazón)	X	X	X
Altura de planta	X	X	
Evaluación de enfermedades	X	X	X
Incidencia de plagas	S0	S0	S0
Evaluación de vuelco	X	X	X
Evaluación de quebrado	X	X	X
Rendimiento en grano	X	X	X

(*): La Estanzuela.

DMO: Dolores, Mercedes, Ombúes de Lavalle.

S0: Se registrará ocurrencia o no del problema.

2. Calidad física e industrial

	LE	Y	DMO
Tamaño de grano (clasificación) (*)	X	X	X
Porcentaje de proteína base seca y Falling Number (**)	X	X	X
Micromalteos (***)	X	X	X
Test de Pollock (****)	X	X	X

(*) Se realizará sobre mezcla de dos repeticiones en todos los ensayos y a todos los tratamientos.

(**) Se realizará sobre mezcla de 1ª + 2ª de dos repeticiones en todos los ensayos, como primer criterio para seleccionar los ensayos que se entregarán para micromalteo al LATU.

(***) Se realizará sobre mezcla de 1ª + 2ª de dos repeticiones de los ensayos, teniendo en cuenta la opinión del Grupo Técnico de Trabajo en Evaluación (GTTE) de Cebada. El número de pruebas de micromalteo requeridas para cada cultivar variará según los años de evaluación:

- 1º año de evaluación: mínimo 1 micromalteo.
- 2 o más años de evaluación: mínimo 2 micromalteos.

(****) Se realizará en febrero de cada año sobre mezcla de 1ª + 2ª de dos repeticiones de tratamientos y ensayos seleccionados por el Grupo Técnico de Trabajo en Evaluación de Cebada en base a los resultados de Falling Number, proteína y clasificación.

En el Anexo II, punto 3.5. se detalla la metodología utilizada por el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) y otros aspectos a tomar en cuenta para la realización de las pruebas de micromalteo.

ANEXO II. METODOLOGÍA

1. Metodología para la evaluación de características agronómicas

1.1. Porte: R = Rastrero, SR = Semi-rastrero, SE = Semi-erecto, E = Erecto

1.2. Ciclo: - número de días desde emergencia a aristas visibles.
- fecha de emergencia: 50 % del ensayo emergido.
- fecha de aristas visibles: 50 % de la parcela con aristas visibles.

1.3. Altura: - desde el suelo hasta el extremo de la espiga, excluyendo las aristas.
- momento de medición: a partir de grano pastoso.

1.4. Vuelco: - se utilizará escala de 0 (sin vuelco) a 5 (totalmente volcado).
- momento de medición: grano pastoso y precosecha.

1.5. Desgrane: - se utilizará escala de 0 (sin desgrane) a 5 (desgrane máximo).
- momento de medición: precosecha.

1.6. Quebrado: - se utilizará la escala de 0 (sin quebrado) a 5 (quebrado máximo).
- momento de medición: precosecha.

2. Metodología para la evaluación del comportamiento sanitario

Manchas Foliare: se utilizará el porcentaje de área foliar afectada (0-100) para evaluar la severidad de la infección. Cuando alguna de las enfermedades del complejo muestre una clara predominancia se indicará con la siguiente nomenclatura:

D: Mancha en red (*Drechslera teres*).
M: mancha en red tipo spot (*Drechslera teres* f. *maculata*).
B: Mancha borrosa (*Bipolaris sorokiniana*).
E: Escaldadura (*Rhynchosporium secalis*).
R: Ramularia (*Ramularia collo-cygni*).
F: Manchado fisiológico (abiótico).
X: Estría bacteriana (*Xanthomonas translucens* pv. *translucens*).
P: bacteriosis (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*).

Roya de la hoja (*Puccinia hordei*): se utilizará la escala de Cobb Modificada. Se calculará el coeficiente de infección que representa el producto de la severidad por un factor correspondiente a cada reacción.

Reacción	Factor
VR	0.1
R	0.2
MR	0.4
M	0.6
MRMS	0.6
MS	0.8
S	1.0
VS	1.0

VR= muy resistente, R= resistente, MR= moderadamente resistente, M= variable (mezcla de reacciones), MRMS= intermedia, MS= moderadamente susceptible, S= susceptible, VS= muy susceptible.

Fusariosis de la espiga (*Fusarium spp.*): esta lectura se efectuará solamente si el daño y el ensayo lo justificara. Se utilizará una escala de doble dígito 0-10/0-10, donde el primer número corresponde al % de espigas afectadas por parcela (incidencia) y el segundo al % de granos afectadas por espiga (severidad).

Oidio (*Blumeria graminis f.sp. hordei*): se anotará el porcentaje del área foliar afectada por la enfermedad.

Colecciones: la evaluación de enfermedades se complementará con la siembra de todos los cultivares en evaluación en colecciones para las distintas enfermedades. En cada colección se brindarán las condiciones más adecuadas para favorecer la enfermedad correspondiente.

Mancha en red: se manejará a campo con inoculación(es) artificiales de *D. teres* y testigos susceptibles cada 20 parcelas. Se realizarán lecturas periódicas.

Mancha borrosa: se manejará bajo telado con sistema de riego por aspersión, con inoculación(es) artificiales de *B. sorokiniana*. Se incluirán testigos susceptibles cada 20. Se realizarán lecturas periódicas.

Escaldadura: se manejará a campo con inoculación(es) artificiales de *R. secalis* y testigos susceptibles cada 20 parcelas. Se realizarán lecturas periódicas.

Fusariosis: se manejará bajo telado con sistema de riego por aspersión, con inoculación(es) artificiales de *F. graminearum*. Se incluirán los cultivares en 2 y más años de evaluación. Se realizarán lecturas en estado de grano lechoso.

Roya de la hoja y roya del tallo: se manejará a campo con testigos susceptibles. La siembra se realizará con bordes susceptibles a lo largo del bloque y entre las parcelas para favorecer la infección natural. Se realizarán lecturas periódicas.

3. Metodología para la evaluación de calidad física e industrial del grano de cebada cervecera

3.1. Tamaño de grano (clasificación)

Se clasifica los granos por su tamaño utilizando una clasificadora Sortimat-Pffeuffer. Los granos que no pasan la zaranda de 2.8 mm son denominados granos de 1^a; los que quedan por encima de la de 2.5 mm, granos de 2^a; los que no pasan la de 2.2 mm, granos de 3^a; y los que quedan por debajo, granos de 4^a.

3.2. Proteína

Se determina por método Kjeldahl o NIR el porcentaje de proteínas sobre mezcla de 1^a + 2^a, molida integralmente. Se informa sobre base seca.

3.3. Falling Number

Se determina sobre mezcla de 1^a + 2^a, molida integralmente. La muestra se coloca en un tubo de ensayo con agua destilada. Se agita hasta lograr una suspensión homogénea.

Se coloca en el dispositivo agitador en su posición de trabajo durante 1 minuto.

Al finalizar emite una señal auditiva, luego se visualiza el valor.

3.4. Test de Pollock

Test que determina la sensibilidad al exceso de agua de los granos de cebada cervecera. Se manifiesta por una menor energía germinativa que la determinada por los análisis, y poco vigor germinativo. Se toma una muestra de 400 semillas de tamaño 1ª + 2ª, dividiéndose en 4 repeticiones de 100 semillas cada una. Se colocan en cajas de Petri con 2 hojas de papel filtro N°1 de 90 mm de diámetro. A dos de las repeticiones se le agregan 4 ml de agua, y a las dos restantes, 8 ml de agua.

Se colocan las placas en gabinete de germinación con temperatura entre 18-21 °C. Se realizan recuentos de granos movidos al segundo, tercer y cuarto día. Luego se calcula el porcentaje de granos germinados en el test de 4 ml a las 72 horas y se informa como energía germinativa (GE/BRF) %. El promedio de los granos germinados en el test de 4 ml, menos el obtenido en el de 8 ml, (ambos a las 72 horas) se informa como sensibilidad al agua (WS/BRF) %. El resultado se expresa como número entero.

3.5. Micromalteo y Análisis de Calidad Industrial

Se realizará en el Sector Micromaltería del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). Considerando la opinión del GTTE de Cebada Cervecera, se seleccionarán los ensayos que van a ser micromalteados, de acuerdo a su nivel promedio de proteína, su clasificación, localidad y época de siembra. Se envía al LATU 350 gr de grano (mezcla de 2 repeticiones del ensayo, tamaño 1ª + 2ª, muestra limpia, sin granos quebrados ni pelados, ni insectos) de cada cultivar, adjuntando además los datos de clasificación, Falling Number, de porcentaje de proteína, humedad y del Test de Pollock.

3.5.1. Definiciones

El micromalteo es un malteo a escala piloto que permite trabajar con pequeñas cantidades de granos con el objetivo de estudiar la calidad industrial de los diferentes cultivares de cebada cervecera antes de su elaboración a escala industrial.

El malteo es un proceso cuyo producto (cebada malteada) es el resultante de una germinación controlada bajo condiciones especiales de humedad y temperatura, fijadas de acuerdo al programa de malteo.

El Programa de malteo utilizado es un programa estandarizado que permite estudiar la historia de la variedad, definido por el GTTE de Cebada Cervecera y la Comisión de Calidad de la Mesa de la Cebada.

3.5.2. Programa de Micromalteo

Planilla de Micromalteo

ETAPA	Duración		Rodillos (%)	Temp. (°C)	Spray (%)	Flujo aire (%)
	Horas	Minutos				
Lavado	----	10	100			
Enjuague	----	15	100			
Remojo 1	4	0	25	18		
Descanso 1	12	0	20	18	100	10
Remojo 2	4	0	25	18		----
Germinación 2	43	0	20	18	100	10
Germinación 3	10	0	25	14	100	10
Germinación 4	43	0	25	15	100	10

SECADO	Duración		Rodillos	Flujo aire	Temp. inicial	Temp. seteo	Temp. final	D. inicial	D. final
	Horas	Minutos	(%)	(%)	°C	°C	°C	%	%
Secado 1	14	0	100	90	50	55	50	90	90
Secado 2	1	0	100	90	60	65	60	80	80
Secado 3	1	0	100	90	70	75	60	80	80
Secado 4	8	0	100	90	80	80	75	80	80
Secado 5	1	0	100	90	20	20	81	80	80

3.5.3. Descripción de actividades

Se micromaltean 300 g de muestra de cada cultivar, según el programa.

El micromalteo insume un total de 7 días. Se utiliza una cebada como testigo de micromalteo ubicado en la misma posición dentro de la micromaltería, suministrada anualmente por las empresas malteras y conservada refrigerada como forma de controlar el proceso de malteo. En caso de que el testigo de micromalteo no se haya comportado como se esperaba se repite el programa de malteo.

Durante la etapa de germinación se realizan dos correcciones de humedad:

- entre las 18 y 24 horas de comenzada la germinación a humedad teórica de 44 %.
- entre las 36 y 40 horas de comenzada la germinación a 46 % (si corresponde).

Luego del secado (última etapa del proceso) se quitan las raicillas y en la malta obtenida se estudian los siguientes parámetros de calidad:

- Humedad
- Proteína total
- Nitrógeno soluble
- Índice de Kolbach
- Extracto fino
- Friabilidad (para 4.5 % de humedad)
- Homogeneidad
- Tiempo de sacarificación
- Poder diastásico
- Viscosidad
- Atenuación límite
- Color

Los ensayos se realizan utilizando las normas Analytica – EBC edición 1997.

3.6. Índice de calidad micromalteo

La calidad industrial de los materiales se evalúa por medio de un índice. El índice de calidad de micromalteo lo fija el GTTE de Cebada Cervecera y la Comisión de Calidad de la Mesa de Cebada. Este índice está constituido por los siguientes parámetros analíticos: extracto fino (base seca), poder diastásico, beta glucanos, atenuación límite y nitrógeno soluble.

Se estableció una escala de 0 a 9 puntos, tanto para los parámetros individuales como para la ecuación general.

ÍNDICE DE CALIDAD DE MICROMALTEO

Parámetro	Ponderación	0	9
Extracto fino	0.25	80,0	≥ 83,0
Poder diastásico	0.15	230; 400	310-340
Beta glucanos	0.20	220	≤ 100
Atenuación límite	0.20	77,9; 86,1	82
Nitrógeno soluble	0.20	650; 870	760

ANEXO III.

**FORMULARIO PARA EL ENVÍO DE
MUESTRAS A EVALUACIÓN****Normas para el envío de semilla:**

- Se requiere una cantidad mínima de semilla de: **2.5 kg - 1º año de evaluación**
5.0 kg - 2 o más años
- Se requiere que la muestra de semillas **cumpla como mínimo con el estándar de la semilla Categoría Básica** y se encuentre **totalmente libre de insectos vivos**. La semilla no deberá estar tratada con tratamiento alguno. Además, deberá cumplir los requisitos fitosanitarios de introducción; se exigirá la documentación que lo avale.
- Se establece como **fecha límite** para el recibo de las muestras de semillas el día **15 de abril** de cada año.
- Se solicita completar este formulario y enviarlo por duplicado. Dicho duplicado actuará como remito y al recibir las muestras se devolverá firmado al remitente.
- Los cambios de nombre de los cultivares se indicarán llenando la columna correspondiente.

Nombre del Criadero:
_____Representante en Uruguay:
_____Dirección:

Teléfono:

Fax:

Correo electrónico:

Ing. Agr. Responsable:

Firma:

Identificación (código o nombre del cultivar)	Nombre del Cultivar (1)	Nombre anterior	Ciclo días	Año de cosecha	Años ya evaluado

(1) En caso de evaluarse bajo un código, se deberá indicar la denominación del cultivar en la columna correspondiente. La información será considerada de carácter confidencial.