

ASIMILACIÓN DE ^{14}C POR LA HOJA Y DEMANDA DE LA ESPIGA COMO DETERMINANTES DE LA ACUMULACIÓN DE FOTOSINTATOS EN EL GRANO DE TRIGO*

P. CABEZUDO CABEZUDO**
R. MARTÍNEZ-CARRASCO**
T. CRISANTO HERRERO**

SUMMARY: In a growth room experiment with three winter wheat varieties and varying ear sizes the flag leaf was exposed to $^{14}\text{CO}_2$ 23 days after anthesis. The ^{14}C fixed by this leaf and its recovery in the whole shoot at maturity were measured.

The mean rate of net leaf photosynthesis, estimated by ^{14}C fixation, was $5 \text{ mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$. About 49 % of the ^{14}C assimilated by the leaf at 23 days was recovered in the whole shoot at maturity. Of this, 87 % was stored in the grains, and only 5 % remained in the labelled leaf. The accumulation of ^{14}C in the ear increased with increasing leaf assimilation. Percentage recovery of ^{14}C in the ear increased with higher grain number, although the percent recovery per grain decreased. More than half of the ^{14}C found in the grain was recovered in type A granules ($>10 \mu\text{m}$), which accounted for 39 % of the total number of starch granules. The relative importance of photosynthate supply by the leaf and the sink capacity of the ear, on assimilate accumulation in the grain, along with some factors affecting sink capacity are discussed.

RESUMEN: En un experimento en cámara de crecimiento, con tres variedades de trigo de invierno y diversos tamaños de la espiga, la última hoja del tallo fue expuesta a $^{14}\text{CO}_2$ 23 días después de la antesis. Se midieron el ^{14}C fijado por esta hoja y su recuperación en las diversas partes de la planta en la madurez.

El valor medio de la fotosíntesis neta de la hoja, estimada por la fijación de ^{14}C , fue de $5 \text{ mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$. En la madurez se recuperó en todo el tallo un 49 % del ^{14}C asimilado a los 23 días. El 87 % de este ^{14}C se almacenó en

* Parte del Proyecto 0050/81 de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica.

** Centro de Edafología y Biología Aplicada. Apartado 257. Salamanca.

los granos, y sólo un 5 % permanecía en la hoja marcada. La acumulación de ^{14}C en la espiga aumentó al crecer la asimilación de la hoja. La fracción del ^{14}C fijado por la hoja que se recuperó en la espiga aumentó con el número de granos, aunque la recuperada en cada grano disminuyó. Más de la mitad del ^{14}C encontrado en el grano se recuperó en los gránulos tipo A ($>10\mu\text{m}$), que representaron el 39 % del número total de gránulos de almidón. Se discuten la importancia relativa del suministro de fotosintatos por la hoja, y su demanda por la espiga, en la acumulación de los mismos en el grano, así como algunos factores que pueden determinar aquella demanda.

INTRODUCCIÓN

La acumulación de materia seca en el grano de trigo (*Triticum aestivum* L.) depende a la vez del suministro de fotosintatos por las partes verdes y de la capacidad de la espiga para almacenarlos (BINGHAM, 1971), siendo variable la importancia relativa de uno y otro factor. El primero está regulado principalmente por la superficie asimilatoria de la planta, mientras que en la regulación de la segunda influyen el número de granos por espiga y el potencial de crecimiento de los mismos (THORNE, 1974). El factor regulador de este último no se conoce bien; puede tratarse de la concentración de sacarosa en el endospermo (JENNER & RATHJEN, 1978), de la actividad de algunas enzimas de la síntesis de almidón (DUFFUS, 1979), o de algunas hormonas (RADLEY, 1978), o bien de la división (BROCKLEHURST, 1977) o la expansión celular (RADLEY, 1976) en el endospermo. También se ha señalado la posible importancia del número de gránulos de almidón en el endospermo, más que el de células, en la regulación del crecimiento del grano (RADLEY, 1978; BROOKS et al., 1982). El almidón se deposita en el endospermo como dos tipos diferentes de gránulos: gránulos A, lenticulares y de mayor tamaño en la madurez, iniciados en fases tempranas del crecimiento del grano, hasta aproximadamente 8 días después de la antesis; y gránulos B, esféricos y más pequeños, que se inician en etapas posteriores aumentando en número hasta la madurez (MAY & BUTTROSE, 1959; BRIARTY et al., 1979). Los cambios de tamaño del grano, inducidos por diversos factores, se asocian con variaciones en el número o tamaño de los gránulos de almidón, habiéndose observado diferencias en la respuesta de los gránulos A y B (BROCKLEHURST & EVERS, 1977; BROOKS et al., 1982). Así pues, el potencial de crecimiento de los granos de trigo podría estar regulado, en alguna medida, por la formación de gránulos de almidón.

El objeto de este trabajo fue investigar la importancia del suministro de fotosintatos por las hojas, y de la demanda de los mismos por la espiga, en la acumulación de materia seca en los granos. También se examinaron los factores que pueden determinar esta demanda, entre ellos el número de gránulos de almidón A y B. Para ello se estudió la acumulación en la espiga del ^{14}C

suministrando a la última hoja, en plantas de distintas variedades y número de granos por espiga, que proporcionan distintos valores de la relación suministro-demanda de fotosintatos. No se analizan aquí las posibles diferencias entre variedades o tamaños de la espiga.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal procedía de un experimento, que se publicará en otro lugar, con tres variedades de trigo de invierno en combinación factorial con tres tratamientos de corte de la mitad superior de la espiga en varias fechas, más un testigo con espiga intacta; las 12 combinaciones factoriales se dispusieron al azar en dos bloques. Las variedades fueron Splendeur, Hobbit y Maris Huntsman. Las espigas se cortaron en la antesis o a los 5 o 15 días después. El cultivo se hizo en macetas con unos 8 kg de una mezcla de suelo arenolimoso y arena (2:1), cada una con 16 tallos. Antes de la siembra se añadieron 300 ml por maceta de una solución con 4,67 g l⁻¹ de nitrógeno, 2,38 g l⁻¹ de fósforo y 5,98 g l⁻¹ de potasio. En dos ocasiones posteriores (25 de Abril y 15 de Junio), se añadieron 200 ml por maceta de una solución nutritiva de Long Ashton (tablas 40 y 41 en Hewitt, 1966) con 200 ppm de nitrógeno. El experimento se realizó en una cámara de crecimiento con iluminación de 400 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (400-700 nm), 16 h de luz, 20°C de día y 15°C de noche, y 76 % de humedad relativa.

La fotosíntesis y posterior distribución de fotosintatos se estimó utilizando ¹⁴CO₂. El aire con ¹⁴CO₂ se obtuvo haciendo reaccionar ¹⁴CO₃Ba (7,33 MBq mg⁻¹) y ¹²CO₃Ba con ácido láctico al 50 % y recogiendo el ¹⁴CO₂ generado en una botella para gases en la que previamente se había hecho el vacío; la botella se rellenó después con aire sin CO₂ hasta alcanzar una presión de 2,5 MPa. La mezcla obtenida tenía 350 $\mu\text{l l}^{-1}$ de CO₂ y una actividad específica de 39,96 kBq μmol^{-1} . A los 23 días después de la antesis, una superficie de 10 cm² de la última hoja, de cuatro tallos en cada combinación factorial de tratamientos, se encerró en una cámara de asimilación de metacrilato mantenida en posición perpendicular a la luz incidente; a través de ella se hizo pasar el aire con ¹⁴CO₂ con un flujo de 20 l h⁻¹ durante 30 s. Dos de las cuatro hojas marcadas se separaron del tallo 10 min después de su exposición y se almacenaron a baja temperatura. Posteriormente las hojas se secaron en una estufa a 80°C durante 24 h. PEARMAN et al. (1981) han encontrado mayores pérdidas de ¹⁴C durante la desecación de la hoja cuando ésta se separa del tallo inmediatamente después de su exposición al aire con ¹⁴CO₂ que cuando se cosecha 10 min después. La pérdida de ¹⁴C por fotorrespiración se completa, probablemente, en estos 10 min. (LUDWIG & CANVIN, 1971), de modo que la pérdida durante la desecación se debería a respiración en oscuridad. Las

autorradiografías realizadas en algunas hojas mostraron que el frente de radioactividad no había alcanzado la base del limbo foliar, indicando que no hubo exportación de ^{14}C fuera de la hoja en los 10 min. Los dos tallos restantes se cosecharon en la madurez, separando los granos, las glumas y raquis, la hoja marcada, y el resto del tallo, que también se secaron en estufa, pesándose posteriormente.

Una superficie rectangular de 2 cm^2 , comprendida en el área de la hoja que se expuso al CO_2 , o submuestras tomadas de las otras partes del tallo (exceptuado el grano) después de molerlas, fueron digeridas con NO_3H al 35 % en baño de agua a 90°C durante 5 h (FERNÁNDEZ, 1978). Después se mezcló una alícuota de esta solución con líquido de centelleo PCS con xileno como solvente (Amersham), añadiendo agua para reducir la acidez y facilitar la mezcla. La determinación de ^{14}C se realizó en un contador de centelleo líquido con una eficiencia del 95 % y corrección de extinción. Las muestras se prepararon por duplicado, repitiéndose dos veces el conteo de cada una.

Antes del análisis de ^{14}C en los granos, éstos se maceraron para separar y contar los gránulos de almidón. Se realizó una digestión con pronasa (BROCKLEHURST & EVERS, 1977), completando la disgregación de los granos con una varilla de vidrio, y la pasta resultante se filtró a través de muselina, llevando a 10 ml el filtrado. Los gránulos de almidón se separaron según su tamaño en un gradiente de sacarosa como el indicado por WILLIAMS y DUFFUS (1977), pero sin centrifugación, que resultó insatisfactoria, dejando un intervalo de 3 o 4 h para la sedimentación de los gránulos. Las capas de solución de sacarosa de 40 % y 20 %, junto con el resto de la solución añadida, se utilizaron como fuente de gránulos B, que se contaron en una solución electrolítica (Isoton II) en un Coulter Counter. Los gránulos contenidos en las capas de sacarosa del 60 % y 80 % en el gradiente se contaron en un microscopio con una cámara Neubauer, separando los de diámetro mayor (gránulos A) y menor de $10\ \mu\text{m}$. El ^{14}C contenido en estas fracciones se determinó sin digestión nítrica como se ha descrito anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La asimilación fotosintética neta de CO_2 a los 23 días de la antesis, calculada en base al ^{14}C remanente en la hoja a los 10 min (Tabla 1), fue de $5\text{ mg CO}_2\text{ dm}^{-2}\text{ h}^{-1}$, por término medio. Este valor puede considerarse normal, dada la edad de las hojas cuando se administró el $^{14}\text{CO}_2$ (WINZELER & NÖSBERGER, 1980). La asimilación de ^{14}C por la hoja guardó una relación directa con el área verde de la planta en una fecha próxima al momento de dosificación (Fig. 1). Por tanto, las diferencias encontradas en la fijación de CO_2 se debieron a variaciones en la superficie asimilatoria. Las medidas de

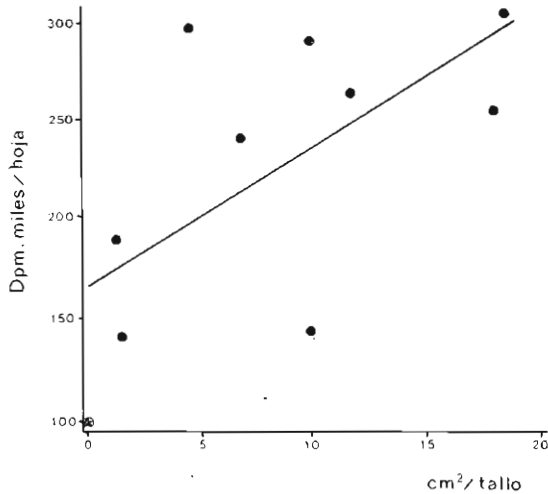


FIG. 1. Relación entre el ^{14}C asimilado por la hoja a los 23 días de la antesis y el área verde a los 25 días. $y = 166431 + 7196 x$, $r = 0,6942^*$. En esta figura y las siguientes: *, $P > 5 \%$; **, $P > 1 \%$. Dpm, desintegraciones por minuto.

área verde efectuadas en el experimento (no publicadas) sugieren que esas variaciones se asociaron con diferencias de senescencia inducidas por las características varietales y el número de granos por espiga.

En la madurez se recuperó en la planta un 49 % (media de los porcentajes de los 24 elementos del experimento) del ^{14}C fijado por la hoja a los 23 días después de la antesis (Tabla 1). Según THORNE (1982) el ^{14}C asimilado por la última hoja que se mueve a otros tallos de la planta es despreciable, en contraste con el asimilado por las hojas inferiores, de modo que la pérdida de ^{14}C entre los 23 días y la madurez se debería en su mayoría a la respiración. Sólo un 5 % del ^{14}C remanente en la madurez permanecía en la hoja marcada, y un 8 % en el tallo, las restantes hojas y las glumas y raquis (Tabla 1). La mayor parte (87 %) de este ^{14}C se encontró en el grano maduro. Estas cifras de recuperación y distribución del ^{14}C son similares a las encontradas por otros autores (RUCKENBAUER, 1975; MAKUNGA et al., 1978).

TABLA I

¹⁴C (DESINTEGRACIONES POR MINUTO) EN LA ÚLTIMA HOJA (HOJA 1) 10 MIN DESPUÉS DE ADMINISTRARLE ¹⁴CO₂ A LOS 23 DÍAS DE LA ANTESIS, Y EN LAS DISTINTAS PARTES DE LA PLANTA EN LA MADUREZ, Y NÚMERO DE GRÁNULOS DE ALMIDÓN DE TIPO A (>10 μm DE DIÁMETRO) Y B (<10 μm) POR ENDOSPERMO. MEDIAS Y DESVIACIONES STANDARD (ENTRE PARÉNTESIS) DE TRES VARIETADES COMBINADAS FACTORIALMENTE CON CUATRO TAMAÑOS DE LA ESPIGA

23 días:	
Hoja 1	227439 (136405)
Madurez:	
Total	97611 (52681)
Hoja 1	3980 (2410)
Resto tallo	4236 (1936)
Espiga (todos los granos)	89395 (49517)
Por grano	3410 (1422)
Gránulos A/grano	2041 (1003)
Gránulos B/grano	1369 (552)
Nº gránulos A, millones/grano	72 (22,4)
Nº gránulos B, millones/grano	116 (21,3)

La Figura 2 muestra que la acumulación de fotosintatos en los granos dependió de la asimilación de la hoja, que explicó el 47 % de la variación de aquella; este pequeño valor sugiere que algún otro factor podría regular también la acumulación de ¹⁴C en la espiga. Dicho factor podría ser la propia capacidad de demanda de fotosintatos de la espiga, que puede medirse por la fracción del ¹⁴C fijado por la hoja que se recupera en la misma, ya que la distribución de los fotosintatos en la planta resulta, probablemente, de la interacción entre el suministro de los mismos y la competencia de los diferentes colectores. En la Figura 3 se representa la regresión múltiple entre la acumulación de ¹⁴C en la espiga, el ¹⁴C asimilado por la hoja, y la fracción de este último que se recuperó en la espiga. El coeficiente de determinación muestra que la acumulación de fotosintatos en la espiga dependió, en una medida del 83 %, no sólo de la asimilación de la hoja (suministro), sino también de la recuperación de fotosintatos en la espiga (demanda). Fue estadísticamente significativa la inclusión en la regresión de las dos variables independientes (Tabla 2).

Examinando los posibles factores determinantes de la demanda de fotosintatos por la espiga, se observa que la relación entre el porcentaje del ¹⁴C fijado por la hoja que se encontró en la espiga y el número de granos (Fig. 4) estuvo próxima a la significación, indicando que el tamaño de la espiga determinó en parte, pero no totalmente, su capacidad como colector de asimilados. Por su parte, la fracción del ¹⁴C asimilado que se recuperó por grano tendió a disminuir al aumentar el número de granos por espiga (Fig. 5),

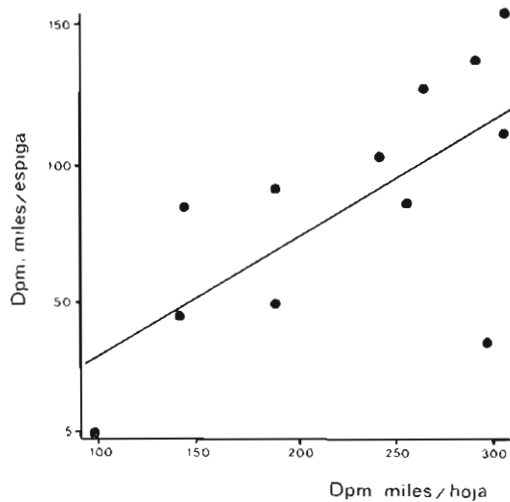


FIG. 2. Relación entre el ^{14}C acumulado por la espiga (granos) y el asimilado por la hoja.
 $y = -9231 + 0,4189 x$, $r = 0,684^*$.

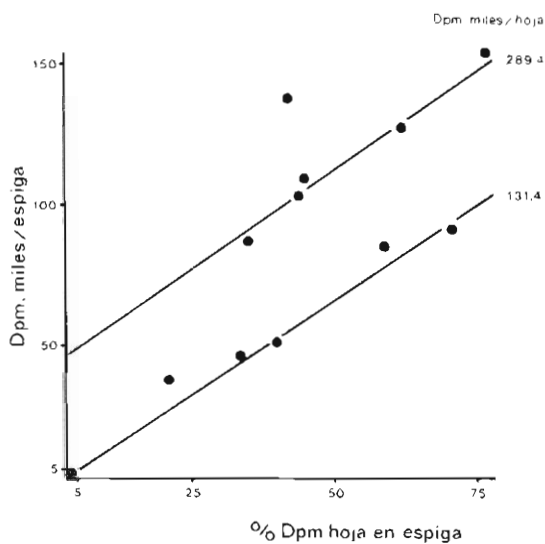


FIG. 3. Relación entre el ^{14}C acumulado en la espiga, el ^{14}C asimilado por la hoja (x_1) y la fracción de éste recuperada en la espiga (x_2).
 $y = -42875 + 0,29572 x_1 + 1384,1 x_2$, $R = 0,9120^{**}$.

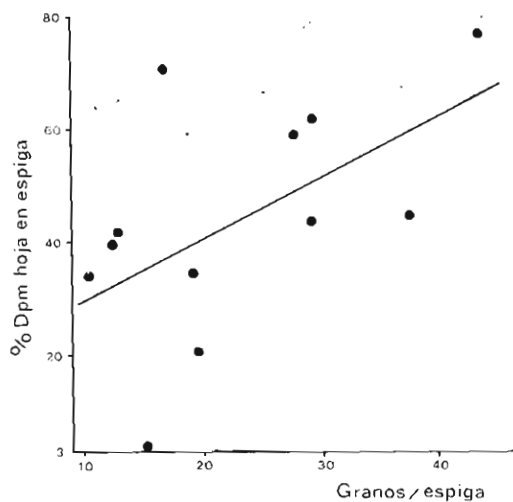


FIG. 4. Relación entre la fracción del ^{14}C asimilado por la hoja que se recupera en la espiga y el número de granos. $y = 19,72 + 1,09 x$, $r = 0,554$.

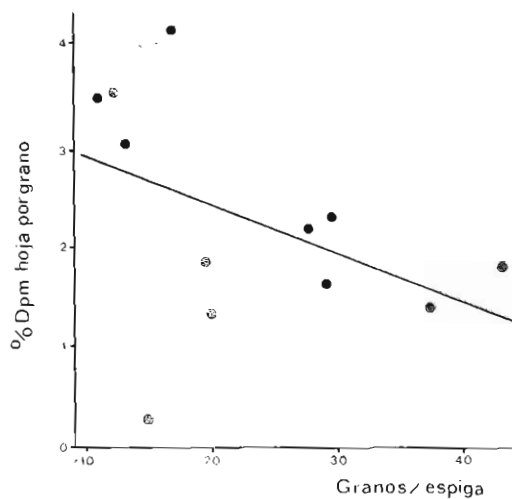


FIG. 5. Relación entre la fracción del ^{14}C asimilado por la hoja que se recupera por grano y el número de granos. $y = 3,254 - 0,046 x$, $r = -0,4345$.

TABLA 2
ANÁLISIS DE LA VARIANZA DE LA REGRESIÓN DEL ^{14}C ACUMULADO
EN LA ESPIGA (y) RESPECTO AL ASIMILADO POR LA HOJA (x_1) Y AL PORCENTAJE DE ÉSTE
QUE SE RECUPERÓ EN LA ESPIGA (x_2). PRUEBA DE CADA x DESPUÉS DE ELIMINAR
EL EFECTO DE LA OTRA

Fuente de Varianza	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	F
Regresión	2	$18451,0660 \times 10^6$	22,232
x_2 tras x_1	1	$8064,4385 \times 10^6$	19,434
x_1 tras x_2	1	$4656,5443 \times 10^6$	11,221
Desviaciones	9	$3734,5496 \times 10^6$	
Total	11	$22185,6157 \times 10^6$	

lo que sugiere que la demanda de cada grano se vio afectada por la competencia con los demás por los fotosintatos disponibles. Así, mientras que la recuperación del ^{14}C en la espiga aumentó al crecer el número de granos, la fracción de los fotosintatos disponibles que obtuvo cada grano disminuyó. Por tanto, los granos en la misma espiga no sólo compitieron entre sí, sino que tuvieron una influencia beneficiosa en el crecimiento de los demás, como ya observaron BREMNER y RAWSON (1978) y COOK y EVANS (1983). La fracción del ^{14}C fijado por la hoja que se recuperó en la espiga guardó relación estrecha con esa fracción por grano y el número de granos por espiga (Fig. 6). Por consiguiente, la capacidad de la espiga como colector de fotosintatos estuvo determinada por la demanda de cada grano junto con el número de los mismos. La correlación indicada explicó el 91 % de la varianza de los datos; la prueba de F señaló que la inclusión de las dos variables independientes fue significativa estadísticamente (Tabla 3).

El número total de gránulos de almidón por endospermo fue, por término medio, $1,9 \times 10^8$ (Tabla 1), similar al encontrado por MAY y BUTTROSE (1959) y BROOKS et al. (1982), e inferior al hallado por BROCKLEHURST y EVERS (1977) y EVERS y LINDLEY (1977). El 58 % del ^{14}C encontrado en el grano se recuperó en los gránulos tipo A, cuyo número fue el 39 % del total de los gránulos de almidón. Los fotosintatos se depositaron, por tanto, en los gránulos A preferentemente, y el reparto de aquellos no se hizo en proporción al número de una u otra fracción de los gránulos de almidón; SHANNON (1974) encontró un resultado similar en maíz. Esto pone de manifiesto la importancia de las fases tempranas del desarrollo del grano —cuando se forman los gránulos tipo A (BRIARTY et al., 1979)— en la determinación de la capacidad del grano para acumular fotosintatos posteriormente.

El ^{14}C recuperado en los gránulos de almidón tipo A guardó relación directa con el número de los mismos (Fig. 7). En cambio, no hubo relación en-

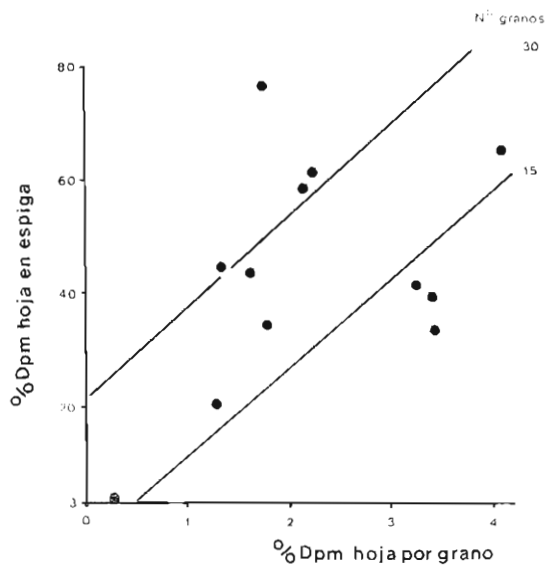


FIG. 6. Relación entre la fracción del ^{14}C asimilado por la hoja que se recupera en la espiga, el número de granos (x_1) y dicha fracción por grano (x_2). $y = -32,48 + 1,83 x_1 + 16,05 x_2$, $R = 0,9520^{**}$.

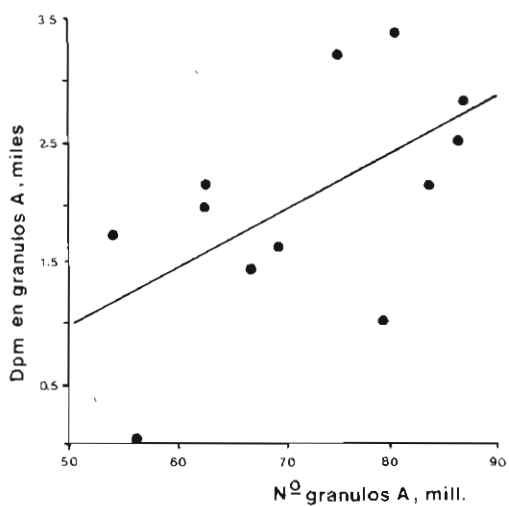


FIG. 7. Relación entre el ^{14}C acumulado en los gránulos de almidón tipo A y el número de éstos en el grano. $y = -1310 + 4,65 \cdot 10^{-5} x$, $r = 0,5766^*$.

TABLA 3
 ANÁLISIS DE LA VARIANZA DE LA REGRESIÓN DEL PORCENTAJE DEL ^{14}C ASIMILADO
 POR LA HOJA QUE SE RECUPERÓ EN LA ESPIGA (y) RESPECTO AL NÚMERO
 DE GRANOS POR ESPIGA (x_1) Y AL PORCENTAJE DE LO ASIMILADO POR LA HOJA
 QUE SE RECUPERÓ EN CADA GRANO (x_2). PRUEBA DE CADA x
 DESPUÉS DE ELIMINAR EL EFECTO DE LA OTRA

Fuente de Varianza	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	F
Regresión	2	4240,1370	43,493
x_2 tras x_1	1	2806,2592	57,570
x_1 tras x_2	1	3261,4516	66,908
Desviaciones	9	438,7026	
Total	11	4678,8396	

tre el ^{14}C y el número de gránulos B (Fig. 8), que sigue aumentando durante las fases tardías de crecimiento del grano (MAY & BUTTROSE, 1959). Entre los 25 días después de la antesis y la madurez, el peso del grano aumentó en medida variable, según la variedad y el tratamiento impuesto a la espiga (da-

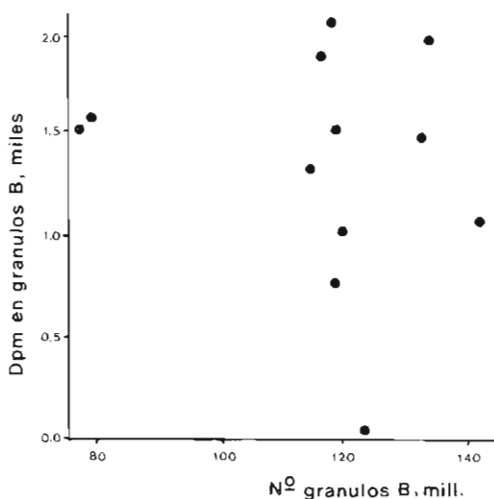


FIG. 8. Relación entre el ^{14}C acumulado en los gránulos de almidón tipo B y el número de éstos en el grano.

tos no publicados). Es posible, por tanto, que las diferencias entre tratamientos en el número de gránulos tipo B en la madurez, no fueran similares a las que había en la fecha de administración de ^{14}C , y por ello, no se observó relación entre acumulación de ^{14}C y número final de gránulos B.

La fracción del ^{14}C fijado por la hoja que se recuperó en cada grano aumentó con el número total de gránulos de almidón (Fig. 9). La regresión explicó el 34 % de la varianza de aquella fracción, lo que sugiere que, aunque el número de gránulos de almidón sea un factor importante en la regulación de la capacidad de demanda de fotosintatos del grano, algún otro factor debe intervenir también en este control.

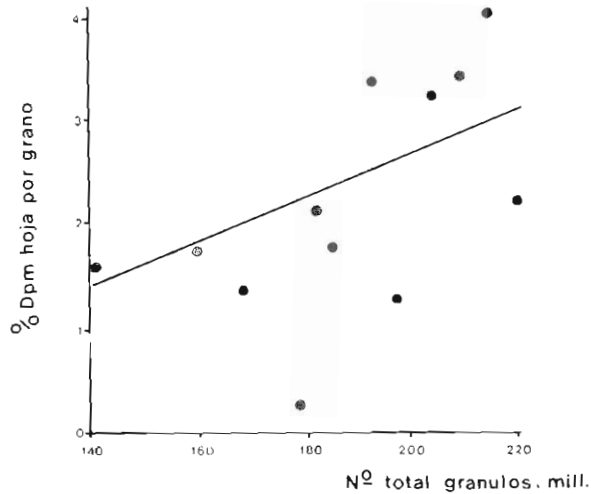


FIG. 9. Relación entre la fracción del ^{14}C asimilado por la hoja que se recupera por grano y la cantidad de gránulos de almidón en el mismo.

$$y = -3,02 + 2,78 \cdot 10^{-3} x, r = 0,5852^*$$

BIBLIOGRAFÍA

- BINGHAM, J. (1971). Physiological objectives in breeding for grain yield. Proc. 6th Eucarpia Congr., Cambridge, 1971, 15-29.
- BREMNER, P. M. & RAWSON, H. M. (1978). The weights of individual grains of the wheat ear in relation to their growth potential, the supply of assimilate and interaction between grains. *Aust. J. Plant Physiol.* 5, 61-72.
- BRIARTY, L. G., HUGHES, C. E. & EVERS, A. D. (1979). The developing endosperm of wheat-A stereological analysis. *Ann. Bot.* 44, 641-658.
- BROCKLEHURST, P. A. (1977). Factors controlling grain weight in wheat. *Nature*, 266, 348-349.
- BROCKLEHURST, P. A. & EVERS, A. D. (1977). The size distribution of starch granules in endosperm of different sized kernels of the wheat cultivar Maris Huntsman. *J. Sci. Food Agric.* 28, 1084-1089.
- BROOKS, A., JENNER, C. F. & ASPINALL, D. (1982). Effects of water deficit on endosperm starch granules and on grain physiology of wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.* 9, 423-436.
- COOK, M. G. & EVANS, L. T. (1983). The roles of sink size and location in the partitioning of assimilates in wheat ears. *Aust. J. Plant Physiol.* 10, 313-327.
- DUFFUS, C. M. (1979). Starch synthesis and grain growth. En «Crop physiology and cereal breeding», eds. J. H. J. Spiertz & Th. Kramer, 185 págs. PUDOC, Wageningen.
- EVERS, A. D. & LINDLEY, J. (1977). The particle-size distribution in wheat endosperm starch. *J. Sci. Food Agric.* 28, 98-102.
- FERNÁNDEZ, J. (1978). A simple system to determine photosynthesis in field conditions by means of $^{14}\text{CO}_2$. *Photosynthetica*, 12, 145-149.
- HEWITT, E. J. (1966). Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Tech. Comm. n.º 2, 2nd ed., 547 pgs. Camb. Univ. Press, London.
- JENNER, C. F. & RATHJEN, A. J. (1978). Physiological basis of genetic differences in the growth of grains of six varieties of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 5, 249-262.
- LUDWIG, L. J. & CANVIN, D. T. (1971). The rate of photorespiration during photosynthesis and the relation of the substrate of light respiration to the products of photosynthesis in sunflower leaves. *Plant Physiol.* 48, 712-719.
- MAKUNGA, O. H. D.; PEARMAN, I., THOMAS, S. M. & THORNE, G. N. (1978). Distribution of photosynthate produced before and after anthesis in tall and semidwarf winter wheat, as affected by nitrogen fertiliser. *Ann. appl. Biol.* 88, 429-437.
- MAY, L. H. & BUTTROSE, M. S. (1959). Physiology of cereal grain. II. Starch granule formation in the developing barley kernel. *Aust. J. Biol. Sci.* 12, 146-159.
- PEARMAN, I., THOMAS, S. M. & THORNE, G. N. (1981). Dark respiration of several varieties of winter wheat given different amounts of nitrogen fertilizer. *Ann. Bot.* 47, 535-546.
- RADLEY, M. (1976). The development of wheat grain in relation to endogenous growth substances. *J. exp. Bot.* 27, 1009-1021.
- RADLEY, M. (1978). Factors affecting grain enlargement in wheat. *J. exp. Bot.* 29, 919-934.
- RUCKLNB AUER, P. (1975). Photosynthetic and translocation pattern in contrasting winter wheat varieties. *Ann. appl. Biol.* 79, 351-359.

- SHANNON, J. C. (1974). In vivo incorporation of Carbon-14 into *Zea mays* L. starch granules. *Cereal Chem.* *51*, 798-809.
- THORNE, G. N. (1974). Physiology of grain yield of wheat and barley. Rep. Rothamsted exp. Stn. for 1973, Part 2, 5-25.
- THORNE, G. N. (1982). Distribution between parts of the main shoot and the tillers of photosynthate produced before and after anthesis in the top three leaves of main shoots of Hobbit and Maris Huntsman winter wheat. *Ann. appl. Biol.* *101*, 553-559.
- WILLIAMS, J. M. & DUFFUS, C. M. (1977). Separation and some properties of large and small amyloplasts throughout development in barley endosperm. *Plant Physiol.* *59*, 189-192.
- WINZELER, H. & NÖSBERGER, J. (1980). Carbon dioxide exchange of spring-wheat in relation to age and photon-flux density at different growth temperatures. *Ann. Bot.* *46*, 685-693.