

**Respuesta de los genes *Ppd-1* (sensibilidad al fotoperíodo) a
tratamientos de fotoperíodo durante pre y post inicio de encañazón**

Tesina del alumno

MORÁN AGUSTÍN

Este trabajo ha sido presentado como requisito

para la obtención del título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Carrera: Ingeniería Agronómica

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 26 de Febrero de 2016

**Respuesta de los genes *Ppd-1* (sensibilidad al fotoperíodo) a
tratamientos de fotoperíodo durante pre y post inicio de encañazón**

Tesina del alumno

MORÁN AGUSTÍN

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Tesina

.....

.....

Ing. Agr. Fernanda G. González

Directora

Índice

1. Introducción.....	1
1.1 Contexto general.....	1
1.2 Ciclo del cultivo.....	2
1.3 Generación de rendimiento potencial.....	3
2. Objetivo general.....	5
3. Objetivos específicos.....	5
4. Hipótesis.....	5
5. Materiales y métodos.....	6
6. Resultados.....	8
6.1 Duración de etapas.....	8
6.1.1 Duración de Emergencia a Antesis.....	8
6.1.2 Duración de las etapas intermedias Emergencia – 1 Nudo – Antesis.....	9
6.1.3 Duración de las sub-etapas 1 Nudo – Hoja bandera – Antesis.....	13

6.2 Número de hojas, espiguillas por espiga y filocrono bajo fotoperíodo natural (0/0).....	14
6.3 Respuesta al fotoperíodo del número de hojas, espiguillas por espiga y filocrono durante la etapa Emergencia – 1 Nudo.....	18
6.4 Respuesta al fotoperíodo del número de hojas y filocrono durante la etapa 1N-HB.....	18
7. Discusión.....	20
7.1 Duración de Emergencia – Antesis y etapas intermedias.....	20
7.2 Número de estructuras y tasa de aparición.....	22
8. Conclusiones.....	23
9. Bibliografía.....	25

Respuesta de los genes *Ppd-1* (sensibilidad al fotoperíodo) a tratamientos de fotoperíodo durante pre y post inicio de encañazón

1. Introducción

1.1 Contexto general

El trigo (*Triticum aestivum* L) es muy importante para la dieta humana debido a su alto valor nutritivo, siendo el alimento principal de un tercio de la población. Por ello, es el cereal cuyo cultivo está más extendido, cubriendo un 17% del área arable del mundo, casi igualmente dividida entre los países desarrollados y los que están en vías de desarrollo (Laegrid *et al.*, 1999). Argentina posee un rol importante ubicándose en promedio, entre 1992-2012 en el puesto N° 14 en la producción de trigo (13 millones ton), dedicando el 10% del área agrícola nacional (FAOSTAT, <http://faostat3.fao.org>). Buena parte de la producción Argentina se obtiene en la Región Pampeana, una de las zonas productoras más importantes del mundo (Hall *et al.*, 1992), siendo el noroeste bonaerense¹ una de las subregiones más productivas aportando el 11% de la producción de la provincia de Buenos Aires (promedio 2003-2013, www.miniagri.gob.ar). Para satisfacer la demanda mundial creciente de alimentos debería duplicarse la producción de trigo en las próximas décadas (Hall y Richards, 2013). Para esto, deberán incrementarse los rendimientos a campo (promedió en la última década 3.9 ton ha

¹ 25 de Mayo, 9 de Julio, Alberti, Arrecifes, Baradero, Capitán Sarmiento, Carmen de Areco, Chacabuco, Colon, Junín, Pergamino, Ramallo, Rojas, Salto, San Andrés de Giles, San Antonio de Areco, San Nicolas, San Pedro.

¹ en el noroeste bonaerense (www.miniagri.gob.ar) utilizando cultivares de mayor rendimiento potencial (Fischer y Edmeades, 2010; Hall y Richards, 2013), que permitan obtener un aumento en el número de granos por unidad de área en condiciones potenciales y sub-potenciales de crecimiento (Fischer y Edmeades, 2010).

1.2 Ciclo del cultivo

El ciclo del cultivo puede dividirse en tres etapas: vegetativa, reproductiva temprana y reproductiva tardía. Durante la etapa vegetativa (EVE) el ápice está diferenciando primordios de estructuras vegetativas (hojas). Esta etapa comienza con la reactivación del metabolismo luego de la imbibición de la semilla y finaliza en iniciación floral, momento en el cual queda definido el número final de hojas (Slafer *et al.*, 2003). La etapa reproductiva temprana (ERTE) comienza con la iniciación floral y finaliza con la formación de la espiguilla terminal. A partir de allí continúa la etapa reproductiva tardía (ERTA) momento en que se producen las flores y ocurre el crecimiento de la espiga, hasta alcanzar la antesis (Slafer *et al.*, 2003). Desde la aparición de la primera hoja a través del coleoptile, las restantes aparecen más o menos regularmente (Filocrono). Si bien se asume en general un filocrono promedio de ca. 100°Cd (grados centígrados días, con temperatura base $-T_b=0^{\circ}\text{C}$), se ha reportado variación en el mismo a lo largo del ciclo del cultivo, apareciendo las hojas previas a la 7^{ma} a menor filocrono que las posteriores (González *et al.*, 2005 y citas allí referenciadas). La tasa de aparición de hojas es normalmente menor que la de iniciación, lo que determina, junto con el hecho de

que el embrión ya tiene iniciadas en la semilla alrededor de 3-4 primordios foliares, que las hojas sigan apareciendo aún mucho después que han dejado de diferenciarse.

1.3 Generación de rendimiento potencial

El número de granos generados por unidad de área (principal componente del rendimiento) se asocia positivamente con el número de flores fértiles en antesis definido principalmente en el periodo de crecimiento de la espiga, durante la última etapa de la encañazón o etapa reproductiva tardía (entre primer nudo detectable y espigazón) (Fischer, 1984; Fischer, 2007). Durante esta etapa, las espigas y tallos se encuentran creciendo activamente y se genera una competencia entre ellas por asimilados lo que causa que muchas de las flores que han comenzado a diferenciarse no lleguen al estado de flor fértil en antesis (Kirby 1988, González *et al.*, 2011a). Por ello, cuanto mayor sea el crecimiento de las espigas en esta etapa previa a antesis, mayor será el peso de las espigas por m² y el número de flores fértiles (Fischer y Stockman, 1980; Brooking y Kirby, 1981; Stockman *et al.*, 1983; Slafer y Andrade, 1993). Esta etapa comprendida entre los 20 a 30 días previos a la antesis es identificada como una etapa crítica para la generación del número de granos por m² (Fischer, 1975, 1985).

Aumentar la duración de la etapa crítica, que incluye el período de crecimiento de la espiga, sin modificar el tiempo a antesis (el cual es óptimo en la mayoría de las regiones productoras) se ha planteado como alternativa para incrementar el rendimiento potencial de los cultivares de trigo (Slafer *et al.*, 1996; Slafer *et al.*,

2001). Una mayor duración de la etapa resultaría en mayor peso seco de las espigas en antesis y mayor número de flores fértiles (González et al., 2003, 2005). A través de la sensibilidad al fotoperíodo de las distintas etapas que componen el tiempo a antesis (EVE, ERTE y ERTA) podría lograrse un aumento de la ERTA a expensas de la EVE+ERTE, de forma de no afectar el tiempo total a antesis.

El trigo es una planta de día largo, por lo cual su tasa de desarrollo se acelera con fotoperíodos más largos, disminuyendo la duración de sus etapas (Garner, 1933). La identificación de los genes que controlan la sensibilidad al fotoperíodo, y el impacto de los mismos en cada una de las etapas ontogénicas del ciclo del cultivo, es un paso indispensable para poder construir materiales que optimicen las duraciones relativas de las etapas pre-antesis con el objetivo de mejorar el rendimiento potencial (González et al., 2010). El principal grupo de genes que gobierna la sensibilidad al fotoperíodo del ciclo a antesis corresponde a la serie homeóloga ubicada en los cromosomas del grupo de ligamiento 2: *Ppd-D1*, *Ppd-B1* y *Ppd-A1* (Welsh et al., 1973; Law et al., 1978; Scarth y Law, 1983), confiriendo en estado recesivo (*Ppd-1b*) sensibilidad al fotoperíodo e insensibilidad en estado dominante (*Ppd1-a*) (Keim et al., 1973). En muchos casos, el orden de insensibilidad (medido como días a antesis) es *Ppd-D1a* > *Ppd-B1a* > *Ppd-A1a* (Scarth y Law, 1984). El efecto fisiológico de estos genes, a pesar de los estudios ya realizados, es aún poco comprendido, existiendo varias controversias (Snape et al., 2001). Se observó que el impacto de *Ppd-D1* en tiempo a antesis está mediado por su impacto en cada una de las tres etapas previas, mientras que *Ppd-B1* modifica el tiempo a antesis en menor medida y principalmente a través de la etapa reproductiva temprana (González et al., 2005). No existen publicaciones

previas del impacto de *Ppd-A1* sobre las etapas particulares del ciclo a antesis, excepto por una tesina de grado de Perez-Gianmarco (2014), quien observó que este gen en estado dominante produciría similar insensibilidad que *Ppd-D1a* en las tres etapas previas a la antesis.

2. Objetivo General

Estudiar el impacto de los genes *Ppd-1* en el desarrollo a antesis del cultivo de trigo bajo fotoperíodos contrastantes.

3. Objetivos Específicos

Determinar el impacto de los genes *Ppd-1* (*Ppd-D1*, *Ppd-B1*, y *Ppd-A1*) bajo condiciones contrastantes de fotoperíodo en:

- 1) El tiempo a antesis y sus etapas intermedias (EVE+ERTE y ERTA);
- 2) El número de estructuras vegetativas (hojas) y reproductivas (espiguillas) formadas y su tasa de aparición (hojas).

4. Hipótesis

1) Los genes *Ppd-1* afectan en forma diferente el tiempo a antesis, modificando la duración de las etapas EVE+ERTE y ERTA en diferente magnitud, dependiendo del valor de fotoperíodo.

2) El número de estructuras vegetativas y reproductivas (hojas y espiguillas) se modifica como consecuencia del impacto de los genes *Ppd-1* y de la respuesta a fotoperíodo. La tasa de aparición de hojas (o filocrono) no es afectada por los genes *Ppd-1* bajo ningún fotoperíodo.

5. Materiales y Métodos

El ensayo se llevó a cabo en el campo experimental de la EEA INTA Pergamino. Se trabajó con el cultivar Paragon (cultivar primaveral del Reino Unido) y cinco líneas isogénicas de dicho cultivar, que difieren en la constitución *Ppd-1* y los donantes de los alelos *Ppd-1* (Tabla 1).

Tabla1: Constitución *Ppd-1* en las líneas utilizadas provistas por el John Innes Center, UK. Paragon (P) es la línea control y el padre recurrente del back-cross. Los genes *Ppd-1* son provistos por distintos cultivares. Por ejemplo: PChS2B indicaría fondo genético de Paragon donde el gen 2B en estado dominante es provisto por Chinese Spring, mientras que PS642B indicaría fondo genético de Paragon donde el gen 2B en estado dominante es provisto por Sonora 64. Las líneas utilizadas son BC4 (ver Bently et al. 2011).

LINEA	Genoma			Dador
	D	B	A	
<i>Paragon (P)</i>	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1b</i>	
<i>PChS2B</i>	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1a</i>	<i>Ppd-A1b</i>	Chinesse Spring
<i>PS642B</i>	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1a</i>	<i>Ppd-A1b</i>	Sonora 64
<i>PS642D</i>	<i>Ppd-D1a</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1b</i>	Sonora 64
<i>PO2D</i>	<i>Ppd-D1a</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1b</i>	Opata
<i>PGS2AL</i>	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1a</i>	GS-100

a: estado dominante; b: estado recesivo

Las líneas se sembraron el 19 de Junio de 2012 en macetas de 5 litros (4 semillas/maceta) bajo condiciones de campo (en jaula anti pájaros). Se mantuvo

libre de estreses bióticos mediante aplicaciones de fungicidas e insecticidas preventivos. Las macetas se regaron para evitar estrés hídrico y se aplicó un fertilizante de liberación lenta (Basacote plus 6M, 16-8-12-5, N-P-K-S) para evitar deficiencias nutricionales.

Para determinar la respuesta al fotoperíodo se extendió el mismo por medio de equipos lumínicos portátiles con luz artificial de baja radiación (González *et al.*, 2003). Se realizaron cuatro tratamientos de fotoperíodo durante emergencia – 1 Nudo (EVE+ERTE)/1nudo-Antesis (ERTA): 0/0, 0/6, 6/0, 6/6, siendo 0 el fotoperíodo natural de la estación de crecimiento del cultivo (ie. fotoperíodo corto) y 6 una extensión de seis horas sobre el fotoperíodo natural. Así, por ejemplo, 0/0 indica que las plantas siempre estuvieron en fotoperíodo natural, mientras que 0/6 indica que estuvieron bajo fotoperíodo natural desde emergencia hasta 1 nudo y de allí hasta antesis se transfirieron a la extensión de 6 horas. Para realizar estos tratamientos se utilizaron dos jaulas: a la primera se le asignó el cero extensión de fotoperíodo y a la otra la extensión de 6 horas. Las macetas del tratamiento 0/0 y las 6/6 estuvieron siempre en la misma jaula mientras que en las transferencias recíprocas (0/6 y 6/0) pasaron de una jaula a la otra. Las unidades experimentales (i.e. las macetas) fueron asignadas al azar a las líneas y a los tratamientos. Se utilizó un diseño completo al azar en sitios con tres repeticiones, donde los sitios fueron los tratamientos de fotoperíodo.

Se registraron las fechas de emergencia, un nudo detectable, hoja bandera y antesis de acuerdo a la escala de Zadocks *et al.* (1974). La duración de la etapa EVE+ERTE se estimó como la duración entre emergencia y detección de 1 nudo (E-1N), mientras que la etapa ERTA se estimó como la duración entre 1 Nudo y

Antesis (1N-AT). Para medir la tasa de aparición de hojas se utilizó la escala de Haun (1973). Se seleccionaron dos plantas por maceta y se midió la aparición de hojas en el vástago principal dos veces por semana hasta la aparición de la Hoja Bandera, contándose en dicho momento el número final de hojas del vástago principal. El filocrono se calculó de dos formas diferentes. Para determinar el impacto de los genes bajo condiciones naturales de campo (el tratamiento 0/0 durante todo el ciclo), se estimó como la pendiente de la relación bi-lineal entre el tiempo térmico ($^{\circ}\text{Cd}$, $T_b=0^{\circ}\text{C}$) y el número de hojas aparecidas (ec. 1).

$$Y = a + b x (x < c) + b c (x > c) + d (x - c) (x > c) \quad (\text{ec. 1})$$

Donde b: representa al filocrono de las primeras hojas aparecidas, d: el filocrono de las últimas hojas aparecidas y c: el número de hoja aparecidas donde se da el cambio del filocrono. Para determinar el impacto de los genes *Ppd-1* bajo diferentes condiciones de fotoperíodo en cada etapa particular (E-1N y 1N-HB), el filocrono se calculó como la relación entre el tiempo térmico y el número de hojas aparecidas dentro de cada etapa.

Para determinar el efecto de las líneas (i.e. diferentes genes *Ppd-1*) y los tratamientos de fotoperíodo se realizaron ANVA ($\alpha=0.05$) utilizando el software Infostat/P (Di-Rienzo *et al.*, 2012). Con el mismo software se llevaron a cabo las comparaciones de medias (Tukey) y las regresiones.

6. Resultados

6.1 Duración de etapas

6.1.1 Duración de Emergencia a Antesis

La duración del tiempo a antesis (E-AT) bajo fotoperíodo natural (0/0), difirió entre las líneas isogénicas (Fig. 1). La línea Paragon presentó un TT entre E-AT ca. 1787 °Cd, seguida por PChS2B con 1321 °Cd. Estas dos líneas difirieron entre sí y con las restantes que oscilaron entre 1193 y 1097 °Cd (Fig. 1). Por otro lado, PS642B llegó a antesis ca. 100 °Cd antes que PO2D (Fig. 1). Todas las líneas redujeron la duración de la etapa E-AN al extender el fotoperíodo 6 horas sobre el natural (6/6). La diferencia entre líneas fue menor bajo este tratamiento de fotoperíodo (6/6), oscilando el TT entre 838 y 963 °Cd. Paragon tuvo similar duración que PChS2B y ésta fue mayor al resto de las líneas. En todos los casos, la duración de la etapa E-AT en los tratamientos 0/6 y 6/0 se encontró entre los tratamientos extremos 0/0 y 6/6 (Fig.1). Calculando el fotoperíodo medio explorado por cada tratamiento entre E-AT, se estimó la sensibilidad al fotoperíodo de dicha etapa (Fig. 2). De acuerdo a lo esperado por su constitución alélica, Paragon fue el que presentó mayor sensibilidad. Sin embargo, no se encontraron grandes diferencias entre el resto de las líneas (Fig. 2).

6.1.2 Duración de las etapas intermedias Emergencia-1Nudo-Antesis

La duración de la etapa E-1N bajo fotoperíodo natural (0/0 y 0/6) fue mayor en la línea Paragon (868 °Cd) respecto al resto de las líneas, las cuales no difirieron entre ellas oscilando entre 747 y 635 °Cd (Fig. 1). Al extender el fotoperíodo (6/0 y

6/6), todas las líneas redujeron la duración E-1N alcanzando la mínima duración para dicha etapa que osciló entre 461 y 385 °Cd sin presentar diferencias entre ellas. La respuesta a fotoperíodo (estimada como la diferencia en la duración de la etapa entre fotoperíodo natural y extendido) fue mayor en Paragon (408 °Cd), seguida de PChS2B (334 °Cd), PS642B (281 °Cd), PGS2AL y PS642D (255 °Cd), finalizando con PO2D (249 °Cd).

La duración de la etapa 1N-AT bajo fotoperíodo natural (0/0) fue más larga en Paragon (918 °Cd) con respecto a las demás líneas, que oscilaron entre 574 y 460 °Cd (Fig. 1). A su vez, PChS2B tuvo una duración mayor de esta etapa que PO2D (Fig. 1). Cuando la etapa se expuso a fotoperíodo extendido (y la etapa anterior también estaba en fotoperíodo extendido: 6/6), sólo la línea Paragon redujo estadísticamente la duración de la misma (la etapa se redujo 416°Cd). El resto de las líneas tendieron a reducir la duración de 1N-AT sólo entre 57 y 39 °Cd, mientras que PO2D no alteró su duración (Fig. 1). Las líneas no difirieron en la duración de 1N-AT bajo el tratamiento 6/6, variando entre 476 y 528 °Cd (Fig. 1). Para determinar la posible respuesta directa de la etapa 1N-AT al fotoperíodo (i.e., independiente del fotoperíodo experimentado en etapas previas), se realizaron los tratamientos 0/6 y 6/0. Al observar la duración de la etapa 1N-AT entre los tratamientos 0/0 vs 0/6, la única que respondió estadísticamente fue Paragon reduciendo la etapa ca. 166 °Cd (Fig. 1). El resto de las líneas tendió a reducir la etapa entre 90 y 65 °Cd, excepto PO2D que sólo tendió a reducir 35 °Cd (Fig. 1). Al acortar el fotoperíodo durante la etapa 1N-AT (comparar los tratamientos 6/6 vs 6/0), todas las líneas incrementaron la duración de la etapa excepto por PS642D y PO2D (Fig. 1). La línea que presentó mayor respuesta fue Paragon (229 °Cd),

seguido de PChS2B y PGS2AL (179 °Cd), y PS642B (122 °Cd). Las dos líneas con el alelo 2D tendieron a aumentar la duración entre 107 (PS642D) y 87 °Cd (PO2D).

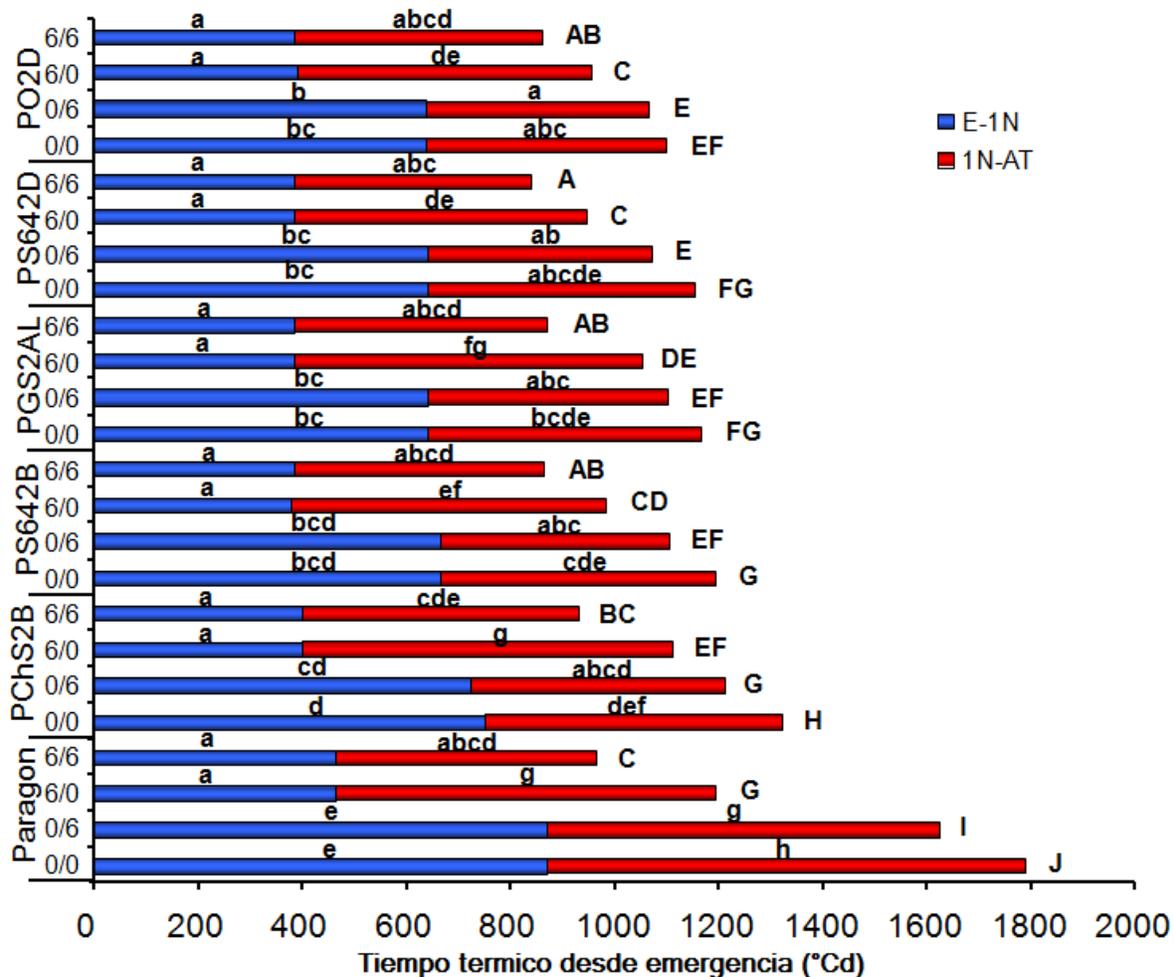
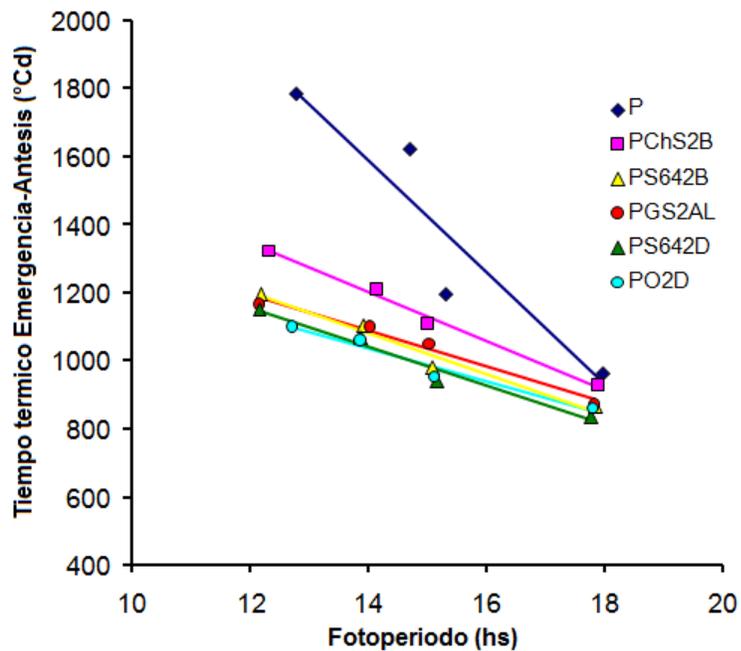


Figura 1: Duración (en tiempo térmico) de la etapa Emergencia - Antesis (E-AT) y sus etapas intermedias Emergencia-1Nudo (E-1N) y 1 Nudo-Antesis (1N-AT). Letras distintas dentro de cada fase de desarrollo (E-AT, E-1N y 1N-AT) indican diferencias estadísticas (Tukey 0,05).



Sensibilidad al fotoperíodo en tiempo a antesis

Línea	Fotoperíodo	Desvío St.	R ² (%)	Valor P
Paragon	-165.6	44.8	62	0.0660
PChS2B	-71.6	4.8	97	0.0043
PS642B	-59.9	6.9	92	0.0131
PGS2AL	-53.1	5.7	93	0.0113
PS642D	-57.1	6.5	92	0.0126
PO2D	-48.2	6.3	90	0.0167

Figura 2: Tiempo térmico entre Emergencia y Antesis en función del fotoperíodo y sensibilidad al fotoperíodo estimada.

6.1.3 Duración de las sub-etapas 1Nudo-Hoja Bandera-Antesis

La duración de la etapa 1N-AT está conformada por una sub-etapa de emergencia de hojas hasta la aparición de la hoja bandera, 1N-HB, y de otra de elongación del pedúnculo de la espiga hasta la antesis, HB-AT. La etapa 1N-AT bajo fotoperíodo natural (0/0) fue más larga en Paragon que en el resto de las líneas debido a las dos sub-etapas 1N-HB y HB-AT, mientras que la mayor duración de PChS2B respecto a PO2D fue principalmente consecuencia de mayor duración de 1N-HB (aunque en este caso ninguna de las dos sub-etapas fueron estadísticamente significativas) (Fig. 3). La respuesta a fotoperíodo extendido de la línea Paragon cuando la etapa previa también provenía de fotoperíodo extendido (i.e. comparar 0/0 vs 6/6), fue consecuencia de una reducción de las dos sub-etapas (Fig.3). Coincidente con la falta de diferencia entre líneas en la duración 1N-AT bajo 6/6, las sub-etapas 1N-HB y HB-AT fueron similares entre líneas (Fig. 3). La respuesta de Paragon al alargar el fotoperíodo durante 1N-AT (comparar 0/0 vs 0/6) fue consecuencia de una reducción de la etapa 1N-HB (200 °Cd) (Fig. 3). En forma contraria, la respuesta de Paragon al acortar el fotoperíodo durante 1N-AT (6/6 vs 6/0) fue consecuencia de la etapa de elongación del pedúnculo principalmente, HB-AT, (151 °Cd), mostrando sólo una tendencia de respuesta la etapa 1N-HB (78°Cd) (Fig.3). El mismo mecanismo de respuesta, i.e. respuesta mediada por etapa HB-AT, se observó en el resto de las líneas al acortar el fotoperíodo, excepto por PChS2B, donde la respuesta estuvo mediada por la sub-etapa 1N-HB (Fig. 3).

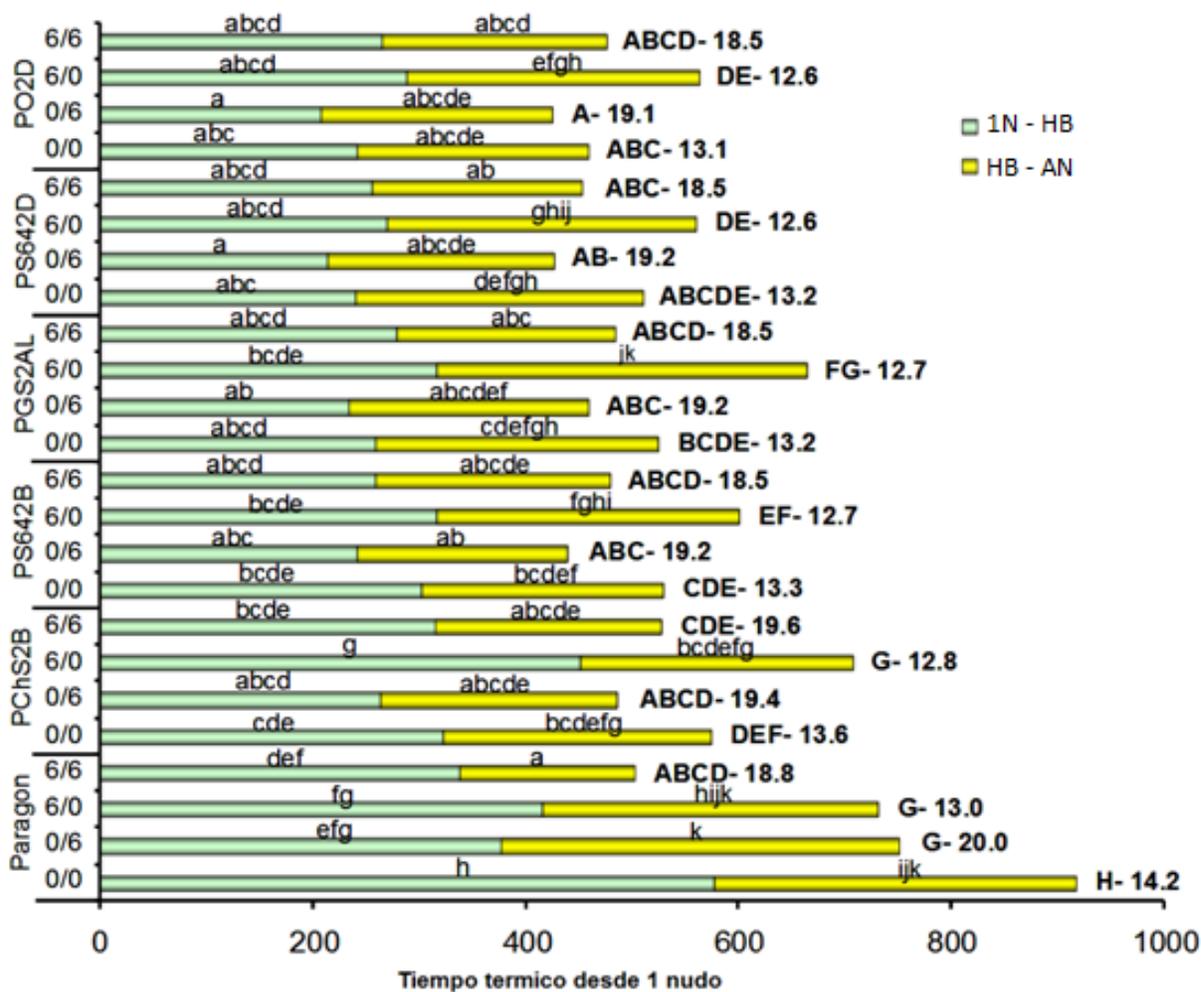


Figura 3: Duración (tiempo térmico) desde 1 Nudo hasta Antesis y sub-fases 1 Nudo - Hoja Bandera (1N-HB) y Hoja Bandera – Antesis (HB-AT). Letras dentro de cada fase de desarrollo indican diferencias estadísticas (Tukey 0.05). Los números al final de la columna indican el fotoperíodo medio experimentado durante 1N-AT.

6.2 Número de hojas, espiguillas por espiga y filocrono bajo fotoperíodo natural (0/0)

El número final de hojas no difirió entre líneas, excepto por Paragon, que tuvo ca. 3 hojas más que el resto de los cultivares (Fig. 4, Tabla 2). Todas las líneas

presentaron dos valores de filocrono, uno para las hojas tempranas y otro para las que aparecieron más tardíamente. El filocrono de las hojas tempranas y tardías fue mayor en Paragon comparado al resto de las líneas (Fig. 4), las cuales presentaron similar filocrono de hojas tempranas y diferencias en el de las hojas tardías no asociadas a la constitución *Ppd-1* (Fig. 3). El estadio de Haun en el cual se observó el cambio de filocrono fue mayor en Paragon comparado con el resto de las líneas (Fig. 3).

Cuando el filocrono se calculó particularmente para la etapa E-1N, se observaron respuestas similares a las descritas para el filocrono de hojas tempranas (Tabla 2). Ello es esperable puesto que gran parte de las hojas aparecidas durante E-1N se podrían clasificar como hojas tempranas (comparar valor de quiebre de filocrono en Fig. 4 con Haun en 1 Nudo en Tabla 2). El estadio de Haun al cual se alcanzó 1 Nudo tendió a ser superior en Paragon (ca 9.5) comparado con el resto de las líneas (8-8.5). Por lo tanto, las diferencias entre líneas en la duración E-1N bajo fotoperíodo natural (0/0) podrían atribuirse tanto al valor de filocrono como al número de hojas que aparecieron entre E-1N.

En relación a la etapa 1N-HB, la mayor duración de Paragon respecto al resto de las líneas puede atribuirse principalmente a un mayor número de hojas aparecidas durante dicha etapa, mientras que el filocrono promedio de dichas hojas también tendió a ser mayor (Tabla 3).

No se observaron diferencias en el número de espiguillas espiga⁻¹ bajo fotoperíodo natural entre las líneas, oscilando entre 24 y 22 espiguillas espiga⁻¹.

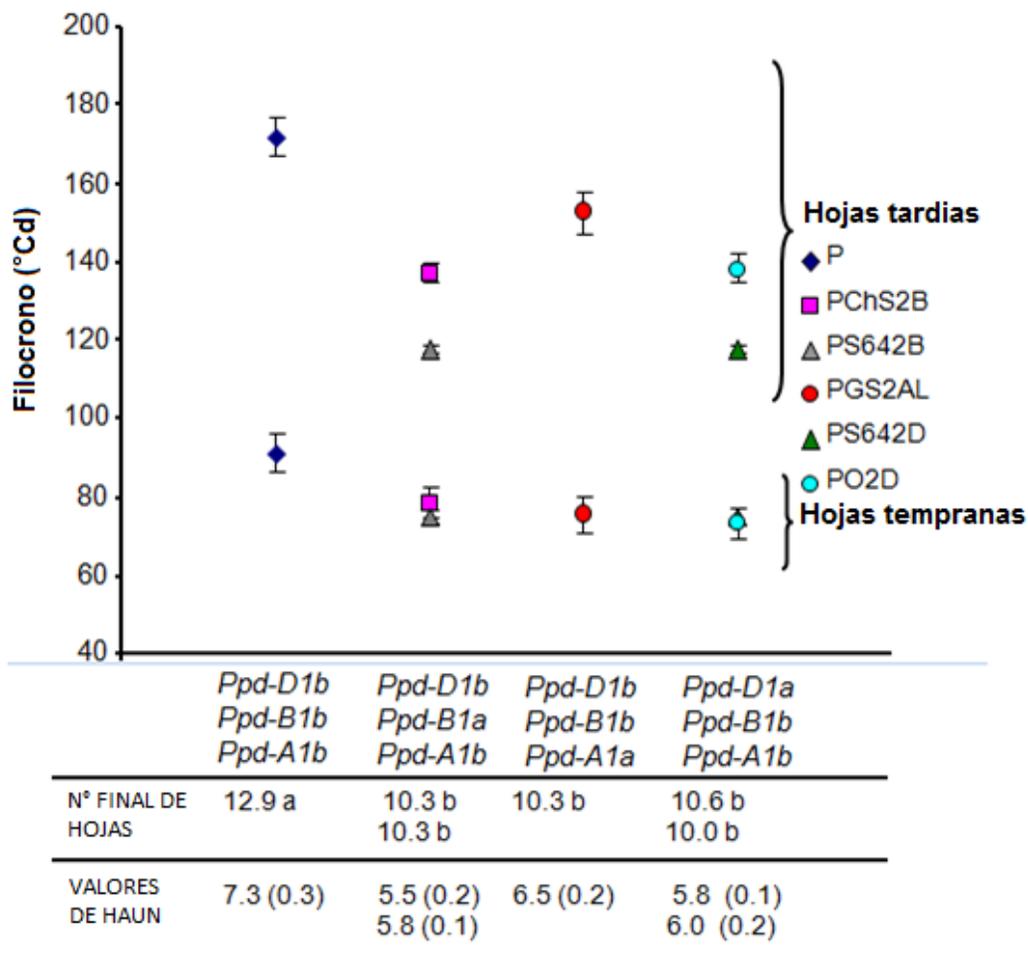


Figura 4: Número final de hojas, filocrono de hojas tempranas y tardías y valores de Haun en el cual cambia de filocrono. R²:99% p<0.0001 para todas las regresiones. Letras distintas para número final de hojas indican diferencias estadísticas (Tukey 0.05). Los valores de Haun y filocrono se presentan como Media (stde).

Tabla 2: Número final de hojas, filocrono de hojas emergidas entre Emergencia y 1 Nudo, valor de Haun al momento de 1 Nudo, y numero de espiguillas/espiga, para las diferentes líneas y tratamientos de fotoperíodo. Letras distintas dentro de columna indican diferencias estadísticas (Tukey 0,05).

<i>Línea</i>	<i>Trat.</i>	<i>Nº final de hojas</i>		<i>Filocrono E-1N</i>		<i>Haun 1N</i>		<i>Nº espiguillas totales/espiga vp.</i>	
P	0/0	12.9	F	93.0	J	9.4	E F	23.5	H I
P	0/6	13.1	F	91.0	I J	9.6	F	24.4	I
P	6/0	10.3	E	68.9	A B C D E F	6.6	A B	19.5	B C D E
P	6/6	9.0	C D	68.3	A B C D E	6.8	A B C	21.2	D E F G H
PChS2B	0/0	10.3	E	84.4	H I J	8.5	D E F	22.8	H I
PChS2B	0/6	10.3	E	83.6	H I J	8.4	D E F	22.7	H I
PChS2B	6/0	8.8	B C	70.5	B C D E F G	5.7	A	18.8	A B C D
PChS2B	6/6	8.4	A B C	69.3	A B C D E F	5.8	A	18.5	A B C D
PS642B	0/0	10.3	E	81.7	H I	8.1	C D E	23.6	H I
PS642B	0/6	10.0	D E	79.7	G H	8.3	D E F	22.7	H I
PS642B	6/0	8.5	A B C	62.2	A B C	6.1	A	19.7	C D E F
PS642B	6/6	8.6	A B C	60.1	A	6.4	A	19.9	C D E F G
PGS2AL	0/0	10.3	E	78.0	E F G H	8.2	D E F	22.4	G H I
PGS2AL	0/6	10.3	E	78.4	F G H	8.2	D E F	22.6	H I
PGS2AL	6/0	7.8	A B	71.2	C D E F G	5.4	A	17.7	A B C
PGS2AL	6/6	8.0	A B C	68.8	A B C D E F	5.6	A	17.6	A B C
PS642D	0/0	10.6	E	76.3	D E F G H	8.4	D E F	23.4	H I
PS642D	0/6	10.0	D E	80.6	G H	8.0	B C D	22.1	E F G H I
PS642D	6/0	8.5	A B C	61.1	A B	6.3	A	18.8	A B C D
PS642D	6/6	8.5	A B C	61.2	A B C	6.3	A	18.2	A B C
PO2D	0/0	10.0	D E	79.9	G H	8.0	B C D	22.3	F G H I
PO2D	0/6	10.3	E	77.2	E F G H	8.3	D E F	21.6	E F G H
PO2D	6/0	8.0	A B C	66.1	A B C	5.9	A	16.9	A B
PO2D	6/6	7.5	A	66.4	A B C D	5.8	A	16.2	A

6.3 Respuesta al fotoperíodo del número de hojas, espiguillas por espiga y filocrono durante la etapa Emergencia-1Nudo

Al aumentar el fotoperíodo 6 horas durante la etapa E-1 nudo se observó una disminución en el número final de hojas y una disminución en el filocrono en todas las líneas, pero este efecto fue más marcado en la línea Paragon, en la cual el número final de hojas descendió de ca. 13 a 9.5 y el filocrono de ca. 92 a 68 °Cd (Tabla 2). El número de espiguillas espiga⁻¹ descendió con la extensión fotoperiódica entre 4 (Paragon, PChS2B y PS642B) y 5 (PS642D y PO2D) espiguillas (Tabla 2). Esta respuesta contrasta con la similitud en número de espiguillas observada entre las líneas bajo fotoperíodo natural.

6.4 Respuesta al fotoperíodo del número de hojas y filocrono durante la etapa 1N-HB

La única línea que respondió a la extensión del fotoperíodo durante 1N-HB fue Paragon (ver ítem 6.1.2 y 6.1.3) y dicha respuesta fue consecuencia de una disminución del filocrono (Tabla 3). Coincidiendo con la falta de respuesta en el resto de las líneas, no se observaron diferencias en el número de hojas ni filocrono al comparar 0/0 vs 0/6 (Tabla 3). En forma contraria, la tendencia a incremento del período 1N-HB en Paragon al acortar el fotoperíodo fue consecuencia de un mayor número de hojas aparecidas durante dicha etapa. Un mecanismo similar podría explicar la respuesta de PChS2B al acortar el fotoperíodo aunque la diferencia en número de hojas no llegó a ser estadísticamente significativa (Tabla 3).

Tabla 3: Número de hojas aparecidas durante 1 Nudo y Hoja bandera, y filocrono de dichas hojas. Letras distintas dentro de columna indican diferencias estadísticas (Tukey 0.05).

LINEA	TRAT	N° HOJA 1N-HB			FILOCRONO 1N-HB		
P	0/0	3.5			D E	166.1	C
P	0/6	3.6			D E	106.7	A B
P	6/0	3.7			E	117.0	A B C
P	6/6	2.2	A	B C		153.6	B C
PChS2B	0/0	2.8			B C D E	148.3	A B C
PChS2B	0/6	2.7	A	B C D		97.3	A
PChS2B	6/0	3.1			C D E	150.0	A B C
PChS2B	6/6	2.6	A	B C D		124.7	A B C
PS642B	0/0	2.1	A	B C		151.0	A B C
PS642B	0/6	1.7	A			148.5	A B C
PS642B	6/0	2.4	A	B C		133.8	A B C
PS642B	6/6	2.2	A	B C		118.1	A B C
PGS2AL	0/0	2.0	A	B		128.5	A B C
PGS2AL	0/6	2.1	A	B C		113.4	A B C
PGS2AL	6/0	2.4	A	B C		136.5	A B C
PGS2AL	6/6	2.4	A	B C		117.9	A B C
PS642D	0/0	2.2	A	B C		114.3	A B C
PS642D	0/6	2.0	A	B		109.6	A B
PS642D	6/0	2.2	A	B C		124.0	A B C
PS642D	6/6	2.2	A	B C		118.5	A B C
PO2D	0/0	2.0	A	B		120.2	A B C
PO2D	0/6	2.0	A	B		106.5	A B
PO2D	6/0	2.1	A	B C		139.3	A B C
PO2D	6/6	1.7	A			159.4	B C

7. Discusión

El rendimiento potencial en trigo podría incrementarse a través de una mayor duración de la ERTA sin modificar el tiempo a antesis a expensas de las etapas previas (Slafer et al., 1996; Slafer et al., 2001). Esto permitiría obtener un aumento de la radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante dicha etapa, incrementándose en consecuencia el peso seco de espiga m^2 en antesis y el número de flores fértiles y granos m^{-2} . Para modificar la duración de las etapas en forma independiente, se ha propuesto alterar en forma diferente la sensibilidad al fotoperíodo de cada una de ellas (EVE, ERTE y ERTA). Los escasos trabajos realizados sobre la base genética de la sensibilidad al fotoperíodo (genes *Ppd*) han demostrado efectos contradictorios de los genes. El objetivo general de esta tesis fue estudiar el impacto de los genes *Ppd-1* en el desarrollo a antesis bajo fotoperíodos contrastantes, considerando no sólo la duración de las etapas intermedias sino también el número de estructuras vegetativas y reproductivas formadas y su tasa de aparición, creando nuevas evidencias que permitan caracterizar el impacto de los mismos.

7.1 Duración de Emergencia – Antesis y etapas intermedias

El impacto de *Ppd-D1* y *Ppd-A1* en tiempo a antesis fue similar, coincidiendo con Perez-Gianmarco (2014). El efecto de *Ppd-B1* difirió dependiendo del dador del gen: Chinesse Spring produjo menor insensibilidad que el alelo provisto por Sonora 64, el cual tuvo efecto similar que *Ppd-D1* y *Ppd-A1*. Este efecto diferente de los alelos de *Ppd-B1* coincide con los reportes de Diaz et al. (2012) quienes

argumentan que puede ser consecuencia de variaciones en el número de copias del alelo. Por otro lado, estos resultados no coinciden con el orden de insensibilidad $Ppd-D1 > Ppd-B1 > Ppd-A1$ propuesto por Scarth y Law (1984), ni concuerda con el orden $Ppd-A1 > Ppd-D1 > Ppd-B1$ planteado por Stelmakh (1998). Además del número de copias, parte de estas controversias pueden ser consecuencia de la posible existencia de genes de respuesta a fotoperíodo aún no mapeados (Snape *et al.*, 2001).

El impacto de los genes durante E-1N indican una tendencia similar al efecto en antesis y la diferencia entre $Ppd-B1$ de Sonora 64 y Chinesse Spring no fue estadísticamente significativa. Al aumentar el fotoperíodo durante E-1N todas las líneas alcanzaron la mínima duración de la etapa indicando que estos genes no afectarían la precocidad intrínseca (o mínima duración). El efecto diferencial de $Ppd-B1$ de Chinesse Spring bajo fotoperíodo corto se evidencia en la etapa 1N-AT, coincidiendo con González *et al.*, (2005). En forma similar, la mínima duración de la etapa 1N-AT fue igual entre líneas (tratamiento 6/6), sugiriendo que los genes tampoco la afectan. Estos resultados coinciden con Slafer (1996), quienes plantearon que la mínima duración de las etapas es independiente de la respuesta a fotoperíodo.

El impacto de los genes en la ERTA se investigó en dos sub-etapas, una de emergencia de hojas hasta la aparición de la hoja bandera (1N-HB) y otra de elongación del pedúnculo de la espiga hasta antesis (HB-AT). Si bien existen pocos reportes en la bibliografía de la respuesta al fotoperíodo durante HB-AT (Miralles *et al.*, 2000), sí se hallan evidencias de los efectos de $Ppd-D1$ y $Ppd-B1$ sobre la etapa 1N-HB (González *et al.*, 2005). En la presente tesis los resultados

obtenidos muestran un mecanismo de respuesta mediada por la sub-etapa HB-AT en todas las líneas, excepto en PChS2B, donde la respuesta estuvo mediada por la sub-etapa 1N-HB. En forma contraria a evidencias previas (González *et al.*, 2005), la ERTA presentó respuesta directa al alargamiento del fotoperíodo (comparar 0/0 vs 0/6) sólo cuando los tres genes *Ppd-1* estaban recesivos (i.e. Paragon). Pero cuando la plantas provenían de fotoperíodo largo y se pasaron a fotoperíodo corto (comparar 6/6 vs 6/0), todas las líneas presentaron respuesta directa durante la ERTA. Estos resultados podrían estar explicados por (i) rango de fotoperíodo explorado: al alargar el fotoperíodo en E-1N y acortar la duración, la etapa posterior 1N-AT explora fotoperíodos más cortos permitiendo observar más respuesta; o por (ii) la tasa de cambio del fotoperíodo: las plantas no sienten de la misma manera un acortamiento y un alargamiento del fotoperíodo. Sobre este último punto hay mucha controversia, mientras que Slafer *et al.* (1994) sugieren que la tasa de cambio no tendría efecto en la respuesta al fotoperíodo, Baker *et al.* (1980) sugieren que sí hay efecto.

7.2 Número de estructuras y tasa de aparición

Bajo fotoperíodo corto, cuando cualquiera de los genes *Ppd-1* se encontraba en estado dominante el NFH disminuyó respecto a Paragon, y todas las líneas disminuyeron el NFH al extender el fotoperíodo durante E-1N, evidenciando que parte de la respuesta en E-1N está asociada a la duración de la etapa vegetativa, coincidiendo con González *et al.* (2005) y Perez-Gianmarco (2014). Parte de la etapa E-1N corresponde al período de diferenciación de espiguillas. En esta tesis

no se observaron grandes diferencias en N° de espiguillas totales/espiga bajo fotoperíodo corto, aunque sí se observó una reducción al alargar el fotoperíodo en todas las líneas, tendiendo a ser mayor dicha respuesta en la línea Paragon y menor en aquellas portadoras del *2D*. Estos resultados coinciden con Perez-Gianmarco (2014) quien no observó diferencias en N° de espiguillas/espiga entre las líneas bajo fotoperíodo corto, pero contrastan con los de González *et al.*, (2005), quienes observaron bajo fotoperíodo corto una reducción en el número de espiguillas/espiga cuando el *Ppd-D1* se encontraba en estado dominante.

El filocrono de las hojas tempranas y tardías fue mayor en la línea Paragon, respecto al resto, contrastando con los reportes previos (González *et al.*, 2005; Perez-Gianmarco, 2014) que sólo observaron un efecto en el filocrono de las hojas tardías. Por lo tanto, el impacto de los genes en la duración de las etapas hasta hoja bandera estuvo mediado no sólo por el número de hojas sino también por su efecto en la tasa de aparición o filocrono.

8. Conclusiones

Todas las líneas presentaron menor tiempo a Antesis bajo fotoperíodo natural cuando los genes estuvieron en estado dominante. La respuesta al fotoperíodo fue similar, provocando el mismo grado de insensibilidad, exceptuando a *Ppd-B1* de Chinese Spring. De este modo, se puede concluir para el ciclo a antesis el siguiente orden de insensibilidad:

$$Ppd-D1 = Ppd-A1 = Ppd-B1 (S64) > Ppd-B1 (CS)$$

Con respecto a las etapas particulares que componen el tiempo a Antesis (EVE + ERTE y ERTA) todos los genes produjeron igual insensibilidad en la etapa E-1N (EVE + ERTE), pero en la etapa 1N-AT (ERTA) *Ppd-B1* de Chinese Spring tuvo efecto sobre 1N-HB mientras que *Ppd-B1* de Sonora 64 no tuvo efecto. Por lo tanto, la primera hipótesis planteada en esta tesis se rechaza parcialmente puesto que sólo se observó un efecto diferencial de *Ppd-B1* de Chinese Spring. Bajo fotoperíodo natural todas las líneas presentaron similar número final de hojas (excepto el control Paragon) y al extender 6 horas el fotoperíodo durante E-1N todas las líneas disminuyeron el número final de hojas al acortarse la duración de dicha etapa. El número de espiguillas por espiga respondió en forma similar al número final de hojas. Estos resultados permiten concluir que el efecto de los genes sobre la duración de las etapas se tradujo en diferencias en el número de estructuras formadas, de acuerdo a lo planteado en la segunda hipótesis. En relación al filocrono, todos los genes en estado dominante produjeron una reducción del mismo bajo fotoperíodo corto y al extender el fotoperíodo desde emergencia todas las líneas redujeron el filocrono. Esta respuesta podría estar mediada por la reducción en el número final de hojas ya que las hojas tempranas (todas aquellas por debajo de la ca. 6ta) presentan mayores filocronos. Al realizar las transferencias fotoperiódicas 0/6 y 6/0, el filocrono tendió a responder pero no se encontraron diferencias estadísticas. Estos resultados permiten concluir que el fotoperíodo experimentado desde emergencia y los genes *Ppd-1* modificaron el filocrono, pero no se observó una respuesta directa del mismo durante 1N-HB. Por ello la segunda hipótesis se rechaza parcialmente.

9. Bibliografía

- Baker, C.K.; Gallagher, J.N., Monteith, J.L. 1980. Daylength change and leaf appearance in winter wheat. *Plant, Cell and Environ.* 3, 285-287.

- Bentley, A. R.; Turner, A.S.; Gosman, N., Leigh F.J.; Maccaferri, M.; Dreisigacker, A. S.; Greenland, A.; Laurie, D.A. 2011. Frequency of photoperiod-insensitive Ppd-A1a alleles in tetraploid, hexaploid and synthetic hexaploid wheat germplasm. *Plant Breeding* 130, 10–15.

- Brooking, I.R.; Kirby, E.J.M. 1981. Interrelationships between stem and ear development in winter wheat: the effects of a Norin 10 dwarfing gene Gai/Rht2. *J. Agric. Sci.* 97, 373-381.

- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. 2012. Infostat/P. Grupo Infostat, FCA, Univ. Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

- Fischer, R.A.; Edmeades, G.O. 2010. Breeding and Cereal Yield Progress. *Crop Sci.* 50, S-85-S-98.

- Fischer, R.A. 1975. Yield potencial in a dwarf spring wheat and the effect of shanding. *Crop Sci.* 5: 607-614.

- Fischer, R.A. 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *J. Agric. Sci.* 100: 447-461.

- Fischer, R.A. 1984. Wheat. En: Smith, W.H., Banta, S.J. (Eds.), Symposium on potential productivity of field crops under different environments, 129-153. IRRRI, Los Baños.

- Fischer, R.A. 2007. Understanding the physiological bases of yield potential in wheat. *J. Agric. Sci.* 145 (2), 99-113.

- Fischer, R.A.; Stockman, Y.M. 1980. Kernel number per spike in wheat: responses to pre-anthesis shading. *Aust. J. Plant Physiol.* 7, 169-180.

- Garner, W.W. 1933. Comparative responses of long-day and short-day plants to relative length of day and night. *Plant Physiol.* 3: 347-356.

- González, F.G.; Slafer, G.A.; Miralles, D.J. 2003. Grain and floret number in response to photoperiod during stem elongation in fully and slightly vernalized wheats. *Field Crops Res.* 81: 17-27.

- González, F.G.; Slafer, G.A.; Miralles, D.J. 2005. Pre-anthesis development and number of fertile florets in wheat as affected by photoperiod sensitivity genes Ppd-D1 and Ppd-B1. *Euphytica* 146 (3), 253-269.

- González, F.G.; García, G.A.; Miralles, D.J y Slafer, G.A. 2010. Bases fisiológicas y genéticas del desarrollo reproductivo en trigo como determinante del número de granos, pp: 12-13. En: Avances en ecofisiología de cultivos de granos. Miralles D.J, Aguirrezabal L.N, Otegui M.E, Kruk B.C y Izquierdo N. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina.

- González, F.G; Miralles, D.J.; Slafer, G.A. 2011a. Wheat floret survival as related to pre-anthesis spike growth. *J. Exp. Bot.* 62, 4889-4901.
- Keim, D.L.; Welsh, J.R.; McConnell, R.L. 1973. Inheritance of photoperiodic heading response in Winter and spring cultivars of bread wheat. *C. J. Plant Sci.* 53, 247-250,
- Hall, A.J.; Richards, A.R. 2013. Prognosis for genetic improvement of yield potential and water-limited yield of major grain crops. *Field Crops Res.* 143, 18-33.
- Haun, J.R. 1973. Visual quantification of wheat development. *Agronomy Journal*, 65, 116–119.
- Kirby, E.J.M. 1988. Analysis of leaf, stem and ear growth in wheat from terminal spikelet stage to anthesis. *Field Crops Res.* 18, 127-140.
- Laegrid, M.; Bockman, O.C.; Kaarstad, O. 1999. *Agriculture, Fertilizer y the Environment.* CABI Publishing, Norsk Hydro, ASA.
- Law, C.N; Stuka, J.; Worland, A.J. 1978. A genetic study of daylength response in wheat. *Heredity* 41: 185-191.
- Perez-Gianmarco, Thomas. Desarrollo reproductivo y generación de rendimiento potencial en trigo: Impacto de los genes de sensibilidad al fotoperíodo (*Ppd-1*). Tesis para optar el título de Ing. Agr., ECANA-UNNOBA- Marzo 2014. 37pg.

- Scarth, R.; Law, C.N.1983. The location of the photoperiod gene, Ppd2 and an additional genetic factor for ear-emergence time on chromosome 2B of wheat. *Heredity* 51: 607-619.

- Scarth, R.; Law, C.N.1984. The control of the day-length response in wheat by group 2 chromosomes. *Z. Pflanzenzüchtg* 92: 140-150.

- Slafer, G.A.; Andrade, F.H. 1993. Physiological attributes to the generation of grain yield in bread wheat cultivars released at different eras. *Field Crops Res.* 31, 351-367.

- Slafer, G.A.; Halloran, G.M.; Connor, D.J. 1994. Development rate in wheat as affected by duration and rate of change of photoperiod. *Ann. Bot.* 73: 671-677.

- Slafer, G.A. 1996. Differences in phasic development rate amongst wheat cultivars independent of responses to photoperiod and vernalization. A view point of intrinsic earliness hypothesis. *J.Agric. Sci. Cambridge*, 126, 403-419.

- Slafer, G.A.; Calderini, D.F.; Miralles, D.J. 1996. Yield components and compensation in wheat: opportunities for further increasing yield potential. En: Reynolds, M.P., Rajaram, S., McNab, A. (Eds), *Increasing yield potential in wheat: breaking the barriers*, 101-133. CIMMYT, Mexico DF.

- Slafer, G.A.; Abeledo, L.G.; Miralles, D.J.; González, F.G., Whitechurch, E.M. 2001. Photoperiod sensitivity during stem elongation as an avenue to rise potential yield in wheat. *Euphytica*, 119, 191-197.

- Slafer, G.A.; Miralles, D.J.; Savin R.; Whitechurch E. y Gonzalez F.G. 2003. Ciclo ontogénico, dinámica de desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en trigo, pp:101-129. En: Producción de granos: bases funcionales para su manejo. Satorre EH, Benech-Arnold RL, Slafer G.A., de la Fuente E, Miralles DJ, Otegui ME, SavinR (Eds). Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina.

- Snape, J.W; Butterworth, K.; Whitechurch, E.; Worland, J.A. 2001. Waiting for the fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica* 119: 185-190.

- Stockman, Y.M.; Fischer, R.A.; Brittain, E.G. 1983. Assimilate supply and floret development within the spike of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 10, 585-594.

- Welsh, J.R; Pirasteh, D.L; Richards, R.D. 1973. Genetic control of photoperiod response in wheat. Proc. 4th International Wheat Genetic Symposium, Missouri.

- Zadoks, J.C.; Chang, T.T.; Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14, 415–421.