

**Desarrollo reproductivo y generación del rendimiento potencial en trigo:
Impacto de los genes de sensibilidad al fotoperíodo (*Ppd*)**

Tesina del alumno

THOMAS PÉREZ GIANMARCO

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 marzo de 2014

**Desarrollo reproductivo y generación del rendimiento potencial en trigo:
Impacto de los genes de sensibilidad al fotoperíodo (*Ppd*)**

Tesina del alumno

THOMAS PÉREZ GIANMARCO

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Tesina

.....

.....

1. Introducción

El cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) provee, junto con el arroz, el 50% de las calorías de la dieta humana (Tweeten y Thompson, 2008), previéndose que para 2020, el 68% de la producción se utilizará como alimento directo por el hombre (OCDE/FAO, 2011). En las próximas décadas su producción deberá incrementarse un 50% respecto a los actuales volúmenes para cubrir la demanda de alimentos (Hall y Richards, 2013). Dado que el área sembrada se incrementará marginalmente, dicho aumento deberá sustentarse en incrementos del rendimiento a campo, los cuales se encuentran asociados a los rendimientos potenciales de los cultivares utilizados (Fischer y Edmeades, 2010; Hall y Richards, 2013).

El incremento del rendimiento potencial de los cultivares se ha basado en el aumento del número de granos por unidad de área, el cual se expresa bajo condiciones potenciales y sub-potenciales de crecimiento (Fischer, 1984; Fischer, 2007; Fischer y Edmeades, 2010). El número de granos suele asociarse positivamente con el número de flores fértiles en antesis, definido principalmente en el período de crecimiento de la espiga (PCE), durante la última etapa de la encañazón o etapa reproductiva tardía (entre primer nudo detectable -1N- y espigazón -E-) (Fischer, 1984). Durante esta etapa, las espigas y tallos están creciendo activamente y la competencia que se generaría entre ellos por asimilados determinaría que muchas de las flores que han comenzado a diferenciarse no lleguen al estado de flores fértiles en antesis (Kirby 1988, González et al., 2011a). Esto explicaría la relación positiva frecuentemente encontrada entre el peso de las

espigas por m² en antesis y el número de flores fértiles (Fischer y Stockman, 1980; Brooking y Kirby, 1981; Stockman *et al.*, 1983; Slafer y Andrade, 1993).

Una alternativa para aumentar el rendimiento potencial de los cultivares consiste en incrementar la duración del PCE, de forma de lograr espigas de mayor peso, sin modificar el tiempo a antesis (que ya es óptimo en la mayoría de las regiones productoras) (Slafer *et al.*, 1996; Slafer *et al.*, 2001). Una posible vía para incrementar la duración del PCE sin modificar el tiempo a antesis consiste en optimizar la sensibilidad al fotoperíodo de las distintas etapas que componen el tiempo a antesis (etapa vegetativa -EVE-, donde se producen hojas, etapa reproductiva temprana -ERTE, donde se producen las espiguillas, y etapa reproductiva tardía -ERTA-, momento en que se producen las flores y ocurre el PCE).

El trigo es una planta de día largo, disminuyendo la duración de sus etapas de desarrollo a medida que el fotoperíodo se incrementa. En estudios previos se pudo observar en relación al PCE o ERTA: i) la existencia de variabilidad entre cultivares comerciales de trigo con tiempo similar a antesis (Whitechurch *et al.*, 2007a; 2007b; González *et al.*, 2011b); ii) que la sensibilidad fotoperiódica de dicha etapa es parcialmente independiente de la respuesta en etapas previas del desarrollo, tanto en estudios bajo condiciones controladas (Miralles y Richards, 2000) como a campo (González *et al.*, 2003; 2005ac; Serrago *et al.*, 2008); y iii) que las modificaciones en la duración de dicha etapa, por alteraciones del ambiente fotoperiódico modificaron el número de flores fértiles en una proporción similar al PSE (Miralles *et al.*, 2000; González *et al.*, 2003; Serrago *et al.*, 2008).

En relación al control genético, el principal grupo de genes corresponde a la serie homeóloga ubicada en los cromosomas del grupo 2: *Ppd-D1*, *Ppd-B1* y *Ppd-A1* (Welsh *et al.*, 1973; Law *et al.*, 1978; Scarth y Law, 1983). Estos genes presentan una epistasis dominante y, en muchos casos, el orden de insensibilidad (medido como días a antesis) es *Ppd-D1* > *Ppd-B1* > *Ppd-A1* (Scarth y Law, 1984). La mayoría de los trabajos genéticos se han concentrado en estudiar el impacto de estos genes sobre el ciclo completo del cultivo (ver revisión en Tablas 1 y 2 en González *et al.*, 2005aa), algunos componentes numéricos del rendimiento, y la posibilidad de finalizar el ciclo bajo buenas condiciones ambientales, existiendo evidencias contradictorias respecto al impacto de los mismos.

Son muy pocos los trabajos cuyo objetivo fuera estudiar qué mecanismo fisiológico es afectado por estos genes en las distintas etapas pre-antesis del ciclo de trigo y cómo éstos afectan los componentes del rendimiento. Scarth *et al.* (1985) encontraron que el principal efecto de los genes *Ppd-D1* y *Ppd-B1* en días a espigazón estaba dado por distinta duración de la ERTE y en menor magnitud por la duración de la ERTA. Estos resultados no coinciden con estudios posteriores. Por ejemplo, Whitechurch y Slafer (2002) encontraron que *Ppd-B1* estaba asociado con la EVE y la ERTA pero no influenciaba la ERTE. Foulkes *et al.* (2004) encontraron que el adelanto de la antesis en *Ppd-D1* era consecuencia de una menor duración de la etapa previa a espiguilla terminal (EVE+ERTE) sin influencia en la ERTA. Por su parte, González *et al.* (2005a) observaron que el impacto de *Ppd-D1* en tiempo a antesis estaba mediado por su impacto en cada una de las tres etapas previas, mientras que *Ppd-B1* modificaba el tiempo a antesis en menor medida y principalmente a través de la ERTE.

Como se puede apreciar, a pesar de los estudios ya realizados, el efecto fisiológico de los genes *Ppd* es aún poco comprendido (Snape *et al.*, 2001), existiendo claras controversias respecto al control que ejercen sobre las distintas etapas pre-antesis del ciclo de trigo. Por otro lado, el impacto de *Ppd-A1* sobre las etapas particulares del ciclo a antesis no ha sido reportado previamente.

2. Objetivo General

Estudiar el impacto de los genes *Ppd* en el desarrollo a antesis del cultivo de trigo.

3. Objetivos Específicos

Determinar el impacto de los genes *Ppd* (*Ppd-D1*, *Ppd-B1*, y *Ppd-A1*) en:

- 1) El tiempo a antesis y sus etapas intermedias (EVE, ERTE y ERTA)
- 2) El número de estructuras vegetativas y reproductivas formadas (hojas, espiguillas y flores)
- 3) La respuesta a modificaciones en el ambiente fotoperiódico exclusivamente durante la ERTA y su efecto en el número de flores fértiles formadas.

4. Hipótesis

- 1) Los genes *Ppd* afectan en forma diferente el tiempo a antesis, modificando la duración de las etapas particulares que lo componen (EVE, ERTE y ERTA) en diferente magnitud.
- 2) La modificación de la duración de la EVE, ERTE y ERTA como consecuencia del impacto de los genes *Ppd* estará correlacionada con modificaciones en el número de estructuras formadas en cada etapa.
- 3) La respuesta a cambios en el ambiente fotoperiódico exclusivamente durante la ERTA será diferente entre los genes *Ppd*, y se traducirá en modificaciones en su duración que determinarán diferencias en el PSE y número de flores fértiles obtenidas.

5. Materiales y Métodos

a) Material Vegetal

Se utilizaron líneas isogénicas para los genes *Ppd* sobre el cultivar primaveral Paragon (Tabla 1) las cuales fueron provistas por el John Innes Center (UK), dentro del marco del Proyecto ADAPTAWHEAT 289842 (financiado por la Comisión Europea). Cada línea posee un solo gen en estado dominante (estado en el cual provee insensibilidad) lo cual permitió estudiar el efecto individual de los genes. Por otro lado, los genes *Ppd-D1* y *Ppd-B1* son provistos por distintos dadores, permitiendo chequear el efecto del gen, independientemente del dador.

INSERTAR TABLA 1

b) Condiciones generales, tratamientos y diseño experimental

El experimento se llevó a cabo en el campo experimental de la EEA-Pergamino bajo condiciones potenciales de crecimiento (sin restricciones nutricionales ni hídricas, con control de enfermedades, plagas y malezas). Las líneas se sembraron el 17 de Julio del 2013, en forma manual, en parcelas de 5 surcos de 1.5 m de longitud espaciados a 0.15 m, con una densidad objetivo de 300 plantas/m².

Para determinar la respuesta de la ERTA al fotoperiodo, el ambiente fotoperiódico explorado se modificó solo durante dicha etapa por medio de estructuras lumínicas portátiles que permitieron incrementar 6 horas el fotoperiodo natural de la estación de crecimiento. De esta forma, se impusieron dos tratamientos fotoperiódicos: 0/0: fotoperiodo natural durante la estación de crecimiento desde emergencia hasta antesis y 0/6: fotoperiodo natural de la estación de crecimiento desde emergencia hasta espiguilla terminal y fotoperiodo extendido 6 horas sobre el natural desde espiguilla terminal hasta antesis. Se utilizó un diseño en parcelas divididas con tres repeticiones. La parcela principal fueron los tratamientos de fotoperiodo y las sub-parcelas las líneas.

c) Mediciones y análisis estadísticos

Para determinar el impacto de los genes en la duración del tiempo a antesis y etapas intermedias (EVE, ERTE y ERTA) se determinó en cada parcela

experimental el momento de emergencia (EM), formación de doble lomo (DL), espiguilla terminal (ET), el momento de hoja bandera (HB) y momento de antesis (AN). Para la determinación de DL y ET, se disectaron bajo lupa binocular una planta por parcela, dos veces por semana, para observar el estado del ápice meristemático utilizando la escala de Gardner et al. (1985). Para determinar el estado de hoja bandera (Z3.9) y antesis (Z6.1) se utilizó la escala de Zadocks et al. (1974), fijándose la fecha cuando el 50% de las plantas presentes en la parcela alcanzaron dicho estado. La EVE se estimó como la duración entre EM y DL, la ERTE como la duración entre DL y ET y la ERTA como la duración entre ET y AN. La duración de las etapas se expresó en TT (°Cd) considerando una Tb:0°C.

Desde la emergencia hasta la aparición de la hoja bandera, el número de hojas aparecidas en el vástago principal se contó dos veces por semana, en dos plantas/parcela marcadas al azar, utilizando la escala de Haun (1974) para determinar el número final de hojas (NFH) y el filocrono (°Cd). Para calcular el filocrono se ajustaron curvas lineales (ec. 1) y bi-lineales (ec. 2) entre el TT y el número de hojas aparecidas.

$$Y = a + b x \quad (\text{ec. 1})$$

Donde b representa al filocrono.

$$Y = a + b x (x \leq c) + b c (x > c) + d (x - c) (x > c) \quad (\text{ec. 2})$$

Donde b: representa al filocrono de las primeras hojas aparecidas, d: el filocrono de las últimas hojas aparecidas y c: el número de hoja aparecida donde se da el cambio del filocrono.

En antesis, se cortaron 0.40 m del surco central para estimar producción de biomasa. De dicho muestreo se seleccionaron 4 plantas representativas que se

separaron en espigas de vástago principal y de macollos. En dichas espigas se midió el número de total espiguillas por espiga (NTEPILLA/EP), el número de espiguillas fértiles por espiga (EPILLA F/EP) como aquellas espiguillas con al menos una flor fértil, y el número de flores fértiles por espiga (FF/EP). Para determinar el estado de flor fértil se utilizó la escala de Waddington et al. (1983). También se estimó la proporción de macollos/planta, y de esta forma se calculó el número de flores fértiles /planta (FF/pl: FF/EP en vástago principal + FF/EP en macollo * proporción de macollos/planta). Las espigas se secaron en estufa a 65-70°C para estimar su peso seco (PSE).

Para determinar el efecto de las líneas (i.e. diferentes genes *Ppd*) y tratamientos de fotoperiodo (i.e. sensibilidad durante la ERTA) se realizaron ANVA utilizando el software Infostat/P (Di-Rienzo et al., 2012). Con el mismo software se realizaron las comparaciones de medias (Tukey) y la correlación de Pearson entre variables. Las regresiones se realizaron en el programa TableCurve 2D v5.01 (SYSTAT software Inc).

6. Resultados

a) Duración del tiempo a antesis y etapas intermedias bajo fotoperiodo natural

La duración del tiempo a antesis (EM-AN) difirió entre líneas ($p < 0.0001$) isogénicas (Fig. 1, Tabla 2). La línea Paragon presentó un TT entre EM-AN ca. 1490°Cd, seguida por PCS2B con 1183°Cd. Estas dos líneas difirieron entre sí y con las restantes que oscilaron entre 1092 y 1050 °Cd (Fig. 1).

El momento de formación de espiguilla terminal (EM-ET) difirió entre líneas (Tabla 2), presentando Paragon la mayor duración mientras que PO2D fue la más precoz (Fig. 1). Estas diferencias en el tiempo a ET estarían más asociadas a diferencias en la EVE (EM-DL) que en la ERTE (DL-ET), puesto que en la primera se pudo observar que las líneas tendieron a diferir ($p = 0.0607$), mientras que no hubo diferencias entre ellas en la ERTE ($p > 0.05$, Tabla 2).

INSERTAR FIGURA 1

INSETAR TABLA 2

La última etapa previa a la antesis, ERTA (ET-AN) difirió entre las líneas ($p=0.0001$, Tabla 2), presentando Paragon mayor duración que las otras, las cuales no difirieron entre sí (Fig. 1). De las dos sub-etapas que componen la ERTA, ET-HB y HB-AN, las dos difirieron entre líneas. La etapa ET-HB fue mayor en Paragon que en el resto de la líneas, que no difirieron entre sí (Tabla 3). La etapa HB-AN, fue mayor en Paragon, PCSB y PGS1002A en relación a PS642B, mientras que PS642D y PO2D presentaron duraciones intermedias.

b) Número de estructuras formadas en cada etapa del ciclo a antesis bajo fotoperíodo natural

b1) Número final de hojas (NFH) y filocrono

El número final de hojas (NFH) difirió entre líneas ($p < 0.0001$), presentando Paragon ca. 2 hojas más que el resto de las líneas (Tabla 4). De acuerdo a lo esperado, el número final de hojas estuvo correlacionado con la duración EM-DL en un 80% (Tabla 5). Todas las líneas excepto Paragon, presentaron el mismo filocrono para todas sus hojas, oscilando entre 102 y 97 °Cd (Tabla 6). En Paragon, las primeras hojas aparecidas hasta la número 10 tuvieron un filocrono de 100 °Cd mientras que las últimas ca. 2 hojas duplicaron dicho valor de filocrono (Tabla 6). El mayor tiempo entre EM-HB (EM-ET + ET-HB) (Fig. 2) de Paragon en relación al resto de las líneas fue entonces consecuencia no sólo del mayor número de hojas sino también de un mayor filocrono de las últimas hojas aparecidas.

INSERTAR TABLA 4

INSERTAR TABLA 5

INSERTAR TABLA 6

INSERTAR FIGURA 2

b2) Número total de espiguillas por espiga

El número total de espiguillas por espiga (NTEPILLA/EP) osciló entre 20.9 y 17.4. No presentó diferencias significativas entre líneas, aunque Paragon tendió a presentar el número más alto ($p = 0.0614$). Dada la baja variabilidad registrada, no hubo correlación significativa entre el NTEPILLA/EP y la duración DL-ET (Tabla 5).

b3) Número de flores fértiles y componentes numéricos

El número de flores fértiles/planta (FF/pl) osciló entre 122 y 68 (Tabla 7), difiriendo entre líneas ($p = 0.0024$). Paragon presentó el mayor valor mientras que PCS2B, PGS1002A, PS642D y PO2D presentaron los valores menores (Tabla 7). Esta respuesta estuvo asociada al número de flores fértiles/espiga (FF/EP) y al número de espiguillas fértiles/espiga (EPILLA F/EP) tanto en vástago principal como macollos (Tabla 7). También se pudo observar que Paragon presentó mayor proporción de macollos/planta ayudando al incremento del número de flores fértiles/planta (Tabla 7). El número de flores fértiles/planta no estuvo directamente correlacionado con la duración ET-AN, pero si lo estuvieron dos de sus componentes importantes, la fertilidad de las espiguillas (n° espiguillas fértiles/ n° espiguillas totales) y la proporción de macollos (Tabla 5).

INSERTAR TABLA 7

c) Respuesta de la ERTA a la extensión fotoperiódica

La respuesta a la extensión de fotoperíodo dependió de la línea (línea * trat. fotoperíodo $p = 0.0260$). La única línea que disminuyó significativamente la duración ET-AN ante la extensión de fotoperíodo fue Paragon, con una reducción de 115°Cd (Fig. 3). Esta respuesta estuvo mediada por una reducción de la etapa HB-AN (reducción de 116°Cd), mientras que la etapa previa, ET-HB, no presentó diferencia entre los tratamientos de fotoperíodo.

La diferencia observada en la duración de la etapa en Paragon bajo los diferentes fotoperíodos no se tradujo en cambios significativos en el peso seco de

las espigas, encontrándose sólo diferencias entre líneas en dicho atributo (Tabla 8). La línea Paragon presentó los mayores valores de PSE, mientras que PCS2B, PGS1002A, PS642D y PO2D presentaron los valores más bajos (Tabla 8). De acuerdo a lo esperado, considerando todas las líneas y tratamientos de fotoperíodo, el 95% de las variaciones observadas en el número de flores fértiles/planta fue explicado por el peso seco de las espigas en antesis (Fig. 4).

INSERTAR FIGURA 3

INSERTAR TABLA 8

INSERTAR FIGURA 4

7. Discusión

Una alternativa para incrementar el rendimiento potencial del cultivo de trigo consiste en aumentar la duración de la ERTA, durante la cual se encuentra el PCE y la definición del número de flores fértiles, sin modificar el tiempo a antesis a expensas de las etapas previas. Para modificar la duración de las etapas en forma parcialmente independiente se ha planteado como posibilidad alterar en forma diferente la sensibilidad al fotoperíodo de las etapas que componen el ciclo a antesis (EVE, ERTE y ERTA). Si bien los primeros estudios sobre la base genética de la sensibilidad al fotoperíodo (genes *Ppd*) midiendo el tiempo total a antesis datan de principio de los 70` (Welsh *et al.* 1973), utilizando líneas de sustitución cromosómica y deleciones cromosómicas, existe aún discrepancia respecto al orden de insensibilidad provisto por estos genes (González *et al.*, 2005a). Los pocos trabajos

que han observado la duración de las etapas que componen el tiempo a antesis (Scarath *et al.*, 1985; Whitechurch y Slafer, 2002; Foulkes *et al.*, 2004; González *et al.*, 2005a) también han reportado efectos contradictorios de los genes *Ppd*. El objetivo general de esta tesis fue estudiar el impacto de estos genes en el desarrollo del ciclo a antesis, considerado no solo la duración de las etapas particulares sino también el número de estructuras formadas en cada una de ellas, generando nuevas evidencias que permitan dilucidar el impacto de los mismos.

a) Tiempo a antesis y duración de etapas intermedias

En la presente tesis el impacto de *Ppd-D1* y *Ppd-A1* en tiempo a antesis fue similar, mientras que el de *Ppd-B1* difirió dependiendo del dador del gen. Sonora 64 produjo igual insensibilidad que *Ppd-D1* y *Ppd-A1*, mientras que el efecto del alelo provisto por Chinese Spring fue menor. Estos resultados contrastan con los de Scarth y Law (1984) quienes encontraron que el orden de insensibilidad era *Ppd-D1*>*Ppd-B1*>*Ppd-A1*. También contrastan parcialmente con los de Bentley *et al.* (2011) y Díaz *et al.* (2012) quienes observaron en las mismas líneas isogénicas utilizadas en esta tesis que el orden de insensibilidad era *Ppd-D1*>*Ppd-A1*>*Ppd-B1*. Dichos experimentos fueron realizados en condiciones controladas en macetas con 10 horas de fotoperíodo, encontrando una diferencia de 4-6 días entre *Ppd-D1* y *Ppd-A1*. En la presente tesis el fotoperíodo explorado entre emergencia y antesis fue superior (14.5h) al explorado en dichos trabajos, explicando tal vez la nula diferencia observada entre *Ppd-D1* y *Ppd-A1* en la presente tesis. Sin embargo, utilizando líneas isogénicas diferentes, Bentley *et al.* (2013) también reportan efecto similar de

Ppd-D1 y *Ppd-A1*, aún bajo 10h de fotoperíodo. El efecto diferente de los alelos de *Ppd-B1* coincide con los reportes de Bentley *et al.* (2011) y Díaz *et al.* (2012). Este último trabajo argumenta que dichas diferencias pueden ser consecuencia de variaciones en el número de copias del alelo.

En relación al impacto de los genes en etapas particulares (EVE, ERTE y ERTA) en la presente tesis se pudo observar que todos afectaron la ERTA, y si bien se vio una tendencia similar al efecto en antesis, la diferencia entre *Ppd-B1* de Sonora 64 y Chinese Spring no fue estadísticamente significativa. Trabajos previos también reportaron efectos de *Ppd-D1* sobre la ERTA (Scarath *et al.*, 1985; González *et al.*, 2005a), contrastando con Foulkes *et al.* (2004). En relación a *Ppd-B1*, Scarath *et al.* (1985) y Whitechurch y Slafer (2002) también reportaron efecto sobre la ERTA, contrastando con González *et al.* (2005a). Una respuesta similar a la observada para la ERTA se observó para EVE+ERTE, pero no se pudo detectar diferencia estadística dentro de EVE y ERTE en la presente tesis. Efectos de *Ppd-D1* sobre las etapas previas a la encañazon (EVE+ERTE) fueron reportados previamente por Scarath *et al.* (1985), Foulkes *et al.* (2004) y González *et al.* (2005a). En relación a *Ppd-B1* también hay reportes previos de efectos sobre estas etapas (Scarath *et al.*, 1985; Whitechurch y Slafer, 2002; González *et al.*, 2005a). Sin embargo, para *Ppd-A1*, esta tesis exploró por primera vez el efecto de este gen en etapas particulares, mostrando que produce insensibilidad (similar a *Ppd-D1*) en las tres etapas previas a la antesis.

El impacto de los genes en la ERTA estuvo mediado por la duración de la etapa de aparición de hojas (ET-HB) y en la etapa de elongación del pedúnculo (HB-AN). En González *et al.* (2005a) también se reportaron efectos de *Ppd-D1* y *Ppd-B1*

sobre la etapa ET-HB, pero no sobre la etapa de elongación del pedúnculo. Existen pocos reportes en la bibliografía de respuesta al fotoperíodo durante dicha etapa (Miralles *et al.*, 2000). Los resultados de esta tesis mostraron que el impacto diferencial de los alelos de *Ppd-B1* de Sonora 64 y Chinesse Spring estaría asociado con el efecto en esta última etapa HB-AN: mientras que el *Ppd-B1* de Chinesse Spring no tuvo efecto, el de Sonora 64 redujo en forma importante (80°Cd) la duración de dicha etapa cuando el gen estaba en estado dominante.

b) Número de estructuras vegetativas y reproductivas formadas

Si bien no se pudieron detectar efectos significativos en la duración de la EVE en esta tesis, si se detectó una reducción significativa en el NFH asociada a dicha duración, cuando cualquiera de los genes *Ppd* estuvo en estado dominante (sin diferencias entre ellos). Estos resultados coinciden con los reportados por González *et al.* (2005a y citas allí mencionadas), pero en dicho trabajo el impacto de *Ppd-B1* fue menor al de *Ppd-D1*. El filocrono no fue modificado por las genes *Ppd* en forma directa, sino mediado por el NFH, coincidiendo con los resultados de González *et al.* (2005a). De esta forma, el incremento en la duración del tiempo E-HB cuando todos los genes se encontraban en estado recesivo fue consecuencia no sólo del mayor NFH sino también del mayor filocrono de las últimas hojas aparecida, influenciando la duración de la etapa ET-HB. Coincidiendo con la falta de impacto observado en la ERTE tampoco se observaron diferencias significativas en el número total de espiguillas/espiga.

El número de flores fértiles/planta estuvo influenciado por la proporción de macollos y el número de espiguillas fértiles/espiga, que estuvieron positivamente correlacionados con la duración ET-AN. Cuando todos los genes *Ppd* estuvieron en estado recesivo, el número de flores fértiles/planta fue máximo, coincidiendo con González *et al.* (2005a). Sin embargo en este último trabajo no se observaron efectos de *Ppd-B1*, mientras que en la presente tesis el NFF/pl fue menor con dicho gen en estado dominante y similar al efecto de *Ppd-A1*. Nuevamente, el impacto de *Ppd-A1* es la primera vez que es reportado. Las variaciones en el ciclo a antesis y en la duración de la ERTA estuvieron asociadas a diferente PSE, explicando esta última el 95% de la variación en el número de flores fértiles/pl, coincidiendo con González *et al.* (2005a).

c) *Respuesta a fotoperíodo durante la ERTA*

Todos los genes en estado dominante produjeron insensibilidad detectando respuesta a la extensión del fotoperíodo sólo cuando los tres se encontraban en estado recesivo. Estos resultados coinciden parcialmente con los de González *et al.* (2005a), puesto que éstos encontraron respuesta también cuando *Ppd-B1* se encontraba en estado dominante. Las diferencias observadas en la presente tesis entre tratamientos de fotoperíodo se deben a diferencias en el periodo de elongación del pedúnculo, durante la última etapa de la curva de crecimiento de la espiga, difiriendo con la mayoría de los trabajos previos donde la respuesta se observa durante la etapa de aparición de hojas (González *et al.*, 2003; 2005a). La respuesta al fotoperíodo en esta etapa no se tradujo en variaciones significativas en el PSE y

FF/pl, contrastando con trabajos fisiológicos previos (Miralles *et al.*, 2000; González *et al.*, 2003; Serrago *et al.*, 2008) y reportes sobre el impacto de los genes (González *et al.*, 2005a). Esta falta de respuesta no fue consecuencia de diferencias en intercepción de radiación, puesto que los dos tratamientos alcanzaron valores superiores a 90% previo a la antesis (Paragon 0/0: 94% y Paragon 0/6: 96%). La radiación incidente acumulada durante los 5.6 días de diferencia entre tratamientos de fotoperíodo fue de 81 Mj/m². Estas diferencias son menores, tanto en días como en radiación, a las observadas en González *et al.* (2005a) para Mercia (cultivar con tres genes recesivos), y ocurrieron durante la última etapa HB-AN, pudiendo explicar la falta de respuesta del PSE. De la misma manera, las diferencias entre *Ppd-B1* de Sonora64 y Chinesse Spring, mediadas por respuesta durante la etapa HB-AN en el primero, no se tradujeron en diferencias en el PSE (comparar Tabla 3 con Tabla 8). Estos resultados podrían sugerir que el fotoperíodo podría tener un efecto directo sobre el desarrollo floral y determinación de la antesis, no mediado por el PSE (González *et al.*, 2005b).

8. Conclusiones

En relación al tiempo a antesis todos los genes en estado dominante produjeron el mismo grado de insensibilidad, exceptuado a *Ppd-B1* de Chinesse Spring. Por lo tanto, se puede concluir el siguiente orden de insensibilidad bajo 14.5h de fotoperíodo:

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

En las etapas particulares que componen el tiempo a antesis (EVE, ERTE y ERTA) todos los genes produjeron igual insensibilidad, aunque dentro de la ERTA,

Ppd-B1 de Sonora 64 afectó la duración HB-AN mientras que el *Ppd-B1* de Chinese Spring no tuvo efecto. Por lo tanto, la primer hipótesis planeada en esta tesis se rechaza parcialmente puesto que solo se observó un efecto diferencial de *Ppd-B1* de Chinese Spring en tiempo a antesis, y las respuestas en etapas previas a la antesis no fueron importantes, salvo por la etapa HB-AN.

Si bien no se detectaron diferencias en EVE sí hubo respuestas del NFH asociadas a dicha duración. En relación al número de espiguillas totales/ espiga no se detectaron diferencias, de acuerdo a la falta de diferencia significativa en la duración de la ERTE. Las variaciones en la ERTA estuvieron asociadas a variaciones en la fertilidad de espiguillas y en la proporción de macollos/pl. Desde el punto de vista ecofisiológico, las variaciones en la ERTA dadas por diferencias en ET-HB estuvieron asociadas a diferente PSE, la cual explico casi en su totalidad las diferencias en el número flores fértiles/planta. Por lo tanto la segunda hipótesis planteada en esta tesis no puede ser rechazada.

No hubo diferencia entre los genes *Ppd* en la respuesta a fotoperíodo entre ca. 14 y 20h. Solo cuando los tres genes se encontraban en estado recesivo se observó respuesta mediada por la duración HB-AN. Esta respuesta no estuvo asociada con diferencias ni en el PSE ni en el número de flores fértiles, por lo tanto la tercer hipótesis planteada en esta tesis es rechazada.

Estas conclusiones deberían ser validadas en un segundo año experimental, explorando valores de fotoperíodo menores.

6. Bibliografía

- Bentley, A.R., Turner, A.S., Gosman, N., Leigh, F.J., Maccaferri, M., Dresigacker, 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.
- Bentley, A.R., Horsnell, R., Werner, C.P., Turner, A.S., Rose, G.A., Bedard, C., Howell, P., Wilhelm, E.P., Mackay, I.J., Howells, R.M., Greenland, A., Laurie, D.A., Gosman, N. 2013. Short, natural and extended photoperiod response in BC2F4 lines of bread wheat with different *Photoperiod-1 (Ppd-1)* alleles. *J. Exp. Bot.* 64:7, 1783-1793.
- 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.
- Díaz, A., Zikhali, M., Turner, A.S., Isaac, P., Laurie, D. 2012. Copy number variation affecting the *photoperiod-B1* and *vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*). *Plosone* 7:3. 33234.
- 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. IRRI, 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.

- Fischer, R.A., Edmeades. G.O., 2010. Breeding and Cereal Yield Progress. *Crop Sci.* 50, S-85-S-98.
- Foulkes, M.J., Sylvester-Bradley, R., Worland, A.J., Snape, J.W., 2004. Effects of a photoperiod-response gene Ppd-D1 on yield potential and drought resistance in UK winter wheat. *Euphytica* 135, 63-73.
- 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., 2005b. Photoperiod during stem elongation in wheat: is its impact on fertile floret and grain number determination similar to that of radiation? *Funct. Plant Biol.* 32, 181-188.
- González, F.G., Slafer, G.A., Miralles, D.J., 2005a. 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., Terrile, I.I., Falcon, M.O., 2011b. Spike fertility and duration of stem elongation as promising traits to improve potential grain number (and yield): variation in modern Argentinean wheats. *Crop Sci.* 51, 1693-1702.
- 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.
- 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.
- 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.

- Law, C.N., Stuka, J., Worland, A.J., 1978. A genetic study of daylength response in wheat. *Heredity* 41, 185-191.
- Miralles, D.J., Richards, R.A., 2000. Responses of leaf and tiller emergence and primordium initiation in wheat and barley to interchanged photoperiod. *Ann. Bot.* 85, 655-663.
- Miralles, D.J., Richards, R.A., Slafer, G.A., 2000. Duration of stem elongation period influences the number of fertile florets in wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 931-940.
- OCDE/FAO, 2011. OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2011-2020. OECD Publishing.http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2011-es
- 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.
- Scarth, R., Kirby, E.J.M., Law, C.N., 1985. Effects of the photoperiod genes Ppd1 and Ppd2 on growth and development of the shoot apex in wheat. *Ann. Bot.* 55, 351-359.
- Serrago, A.R., Miralles, D.J., Slafer, G.A., 2008. Floret fertility in wheat as affected by photoperiod during stem elongation and removal of spikelets at booting. *Eur. J. Agron.* 28, 301-308.

- 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., 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 phase as an avenue to raise potential yield in wheat. *Euphytica* 119, 191-197.
- Snape, J.W., Butterworth, K., Whitechurch, E., Worland, A.J., 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*, 879-884. Missouri.
- Whitechurch, E.M., Slafer, G.A., 2002. Contrasting Ppd alleles in wheat: effects on sensitivity to photoperiod in different phases. *Field Crops Res.* 73, 95-105.
- Whitechurch, E.M., Slafer, G.A., Miralles, D.J., 2007a. Variability in the duration of stem elongation in wheat and barley. *J. Agron. & Crop Sci.* 193(2), 138-145.

- Whitechurch, E.M., Slafer, G.A., Miralles, D.J., 2007b. Variability in the duration of stem elongation in wheat genotypes and sensitivity to photoperiod and vernalization. *Agron. & Crop Sci.* 193(2), 131-137.
- Tweeten, L. and Thompson, S. R., 2008. Long-term agricultural output supply-demand balance and real farm and food prices. Working paper AEDE-WP 0044-08, Ohio State University, Columbus, OH.
- Waddington, S.R., Cartwright, P.M., 1983. A quantitative scale of spike initial and pistil development in barley and wheat. *Ann. Bot* 51, 119-130.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14, 415–421.

El número total de primordios diferenciados (aparecidos y acumulados en el ápice) se contó desde emergencia hasta formación de la espiguilla terminal. Para calcular la tasa de diferenciación de hojas (hojas/°C) y de espiguillas (espiguillas/°C), se ajustaron curvas bi-lineales (ec 1) a la relación entre el número total de primordios y el TT desde emergencia.