GENERACIÓN DE RENDIMIENTO EN CULTIVARES DE TRIGO CON Y SIN EL GEN HAHB4 BAJO DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES

Trabajo final de grado del alumno

Este trabajo ha sido presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo Carrera Ingeniería Agronómica Reforma Inversitante Ingeniería Igis

Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires

Escuela de Ciencias Agrarias Naturales y Ambientales

GENERACIÓN DE RENDIMIENTO EN CULTIVARES DE TRIGO CON Y SIN EL GEN HAHB4 BAJO DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES

Trabajo final de grado del alumno

PARETA MARCOS JAVIER

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Dra. María De Los Angeles Rossini Dra. Nicole Pretini

Ing. Agr. (MSc) Ignacio Terrile

Evaluadora

Evaluadora

Evaluador

Dra. Fernanda Gabriela González

Directora

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

Pergamino, 11 de diciembre de 2023

<u>Índice</u>

Resumen	4
Palabras Clave	4
Introducción	5
Generación de rendimiento en el cultivo de trigo	5
Genética HB4	6
Hipótesis	7
Objetivos generales	7
Objetivos específicos	7
Materiales y métodos	8
Conducción del ensayo	8
Variables analizadas en el cultivo	8
Resultados y discusión	9
Fenología externa	9
Agua disponible a la siembra y ambientes explorados	10
Rendimiento y componentes numéricos y ecofisiológicos	15
Consumo y eficiencia en el uso del agua	18
Rendimiento relativo y déficit hídrico	21
Conclusiones	22
Ribliografía	24

Resumen

El estrés abiótico-climático, es uno de los factores más importantes en la reducción de productividad de trigo en Argentina. Los cultivos genéticamente modificados pueden contribuir a mitigar los efectos negativos de los eventos climáticos caracterizados por poseer baja previsibilidad y gran impacto productivo.

Durante los últimos años como resultado de la biotecnología, se obtuvieron cultivares de trigo transformados con el factor de transcripción HaHB4 proveniente del girasol, el cual le confiere tolerancia a estrés hídrico, temperatura y salinidad.

En este trabajo evaluamos la performance reproductiva de dos cultivares elite de trigo adaptados a la región pampeana, uno convencional (sin modificaciones genéticas) y su isolínea modificada genéticamente a la cual se le introgresó el factor de transcripción HaHB4. Para ello, estudiamos los componentes de rendimiento en grano, el consumo de agua y su eficiencia de uso del agua para rendimiento en grano y biomasa. Los ensayos a campo fueron llevados a cabo durante los años 2018 y 2019 en el campo experimental Rizobacter S.A. ubicado en la localidad de Pergamino (-33.8568181 S, -60.5395261 O), conducidos bajo secano y abarcando amplios periodos de siembra logrando captar condiciones térmicas e hídricas contrastantes. El cultivar de trigo modificado genéticamente obtuvo un rendimiento superior (P<0.05) en los ambientes con déficit hídrico y/o temperaturas medias elevadas, incrementando su rendimiento relativo respecto al convencional 0.18% por mm de déficit hídrico en la etapa reproductiva. El aumento en el rendimiento estuvo explicado principalmente por lograr sostener un mayor número de granos y mayor biomasa total producida sin modificaciones en el índice de cosecha. El consumo de agua y las eficiencias en el uso de agua solo fueron modificadas por el ambiente (P<0.001) sin efectos de los genotipos, aunque observamos una tendencia a ser mayores en el cultivar modificado para los ambientes más estresantes. La adopción de estos recursos biotecnológicos supone una herramienta más de manejo a la hora de sostener la productividad en caso de transitar estrés hídrico y/o térmico, disminuyendo su variación interanual.

Palabras claves: Estrés abiótico, HaHB4, Trigo, Generación de rendimiento.

Introducción

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es uno de los principales cereales cultivados en el mundo, junto con el maíz y el arroz, alcanzando en el país una superficie de siembra que supera los 6.5 millones de ha en la campaña 20/21, con una producción de ca.16.7 millones de toneladas, y rendimientos promedios de 2.8 T/ha (Bolsa Comercio Rosario, 2021). La demanda global de alimentos se incrementará de manera sostenida en el futuro, traccionando la necesidad de aumentar la producción de manera sostenible (Tilman *et al.*, 2011). Para ello, la tasa de aumento del rendimiento real (i.e. aquel obtenido por el productor) debiera incrementarse (Ray *et al.*, 2013, Fischer y Connor, 2018).

El potencial de rendimiento que poseen los cultivos no siempre es alcanzado debido a diversas causas bióticas y abióticas. La brecha entre el rendimiento promedio real y el potencial en Argentina varía entre 0,8 y 2,7 T ha⁻¹, de acuerdo con la zona productiva que se considere (Aramburu Merlos *et al.*, 2015). La deficiencia hídrica es uno de los principales problemas que afronta la agricultura global bajo secano por su efecto negativo sobre los cultivos y por ser uno de los factores que menos previsibilidad tiene. En Argentina es uno de los principales factores que reducen la productividad de trigo, generando importantes pérdidas económicas (Aramburu Merlos *et al.*, 2015).

En condiciones de campo bajo secano, el agua disponible para los cultivos depende de las precipitaciones y de la capacidad de almacenaje de agua del suelo y la exploración de este por parte de las raíces. Cuando la absorción de agua por parte de las raíces es insuficiente para compensar la demanda atmosférica se produce una deficiencia hídrica. Si este desbalance es muy pronunciado y/o se prolonga en el tiempo, genera en el cultivo una situación de estrés hídrico que afecta su normal funcionamiento. El resultado es una disminución de la tasa de crecimiento y un tamaño menor de los órganos que se encuentran en expansión activa en el momento del estrés. De persistir esta situación, especialmente durante los estadios definidos como críticos para la determinación del rendimiento, este último se reduce (Satorre *et al.*, 2003).

Generación de rendimiento en el cultivo de trigo

El rendimiento puede comprenderse como el producto del número de granos generados por m² (NG) y el peso medio de los mismos (PG). En general, las variaciones en el NG explican una mayor proporción de la variabilidad del rendimiento que el PG, bajo diferentes condiciones ambientales. Si bien los componentes que definen el número de granos por m² se generan desde la siembra hasta unos días posteriores a la floración,

existe un periodo de tiempo crítico comprendido entre 20 días pre-floración y 10 días post-floración, el cual coincide con el crecimiento activo de las espigas y tallos hasta el cuaje de los granos. Durante este periodo el efecto negativo producido por explorar condiciones ambientales no óptimas genera una reducción del número de granos por unidad de área que no puede ser compensado por incremento en el peso del grano, reduciendo el rendimiento. Otra forma de comprender la generación del rendimiento consiste en analizarlo como el resultado del crecimiento total del cultivo (biomasa total, BT) y la proporción de este que es particionado hacia los órganos de cosecha (índice de cosecha, IC).

Desde el punto de vista de los recursos disponibles para el crecimiento, la biomasa producida es el resultado del recurso consumido y la eficiencia de uso de dicho recurso. Cuando el cultivo crece en condiciones potenciales, sin limitaciones hídricas y nutricionales, la radiación es el recurso limitante y el rendimiento es el resultado de la radiación incidente acumulada en el ciclo (Riac), la eficiencia con la cual dicha radiación se intercepta (ei), la eficiencia con la cual la radiación interceptada es convertida en biomasa (EUR: eficiencia en el uso de la radiación), y el IC. En cambio, cuando el agua es limitante, el rendimiento puede interpretarse como el resultado del agua consumida o evapotranspirada (ETc), la eficiencia con la cual se convierte en biomasa (EUA_{BT, ET}) y el IC (Passioura, 1996).

Genética HB4

Durante los últimos años se sumó una herramienta importante, producto de la biotecnología: los cultivos tolerantes a factores abióticos como estrés hídrico, temperatura y salinidad, los cuales representan una tecnología sustentable para mejorar el rendimiento bajo estrés abiótico (González *et al.*, 2020).

Esta tecnología tiene su origen en Girasol, donde el factor de transcripción (FT) HaHB4, inducido por factores ambientales y hormonales, expresa tolerancia a la sequía (Palena *et al.*, 1999; Gago *et al.*, 2002). Dezar *et al.* (2005) lograron que plantas de Arabidopsis transformadas con el FT de girasol, expresaran tolerancia a dicho estrés.

Una investigación más profunda sobre el mecanismo desencadenado por este gen para conferir tolerancia en Arabidopsis indicó que no implicaba el cierre de estomas, sino un retraso de la senescencia a través de la inhibición de los receptores de etileno (Manavella *et al.*, 2006). Las plantas que expresaron HaHB4 continuaron creciendo

cuando el estrés fue moderado y, por lo tanto, el impacto en la productividad se redujo con respecto a las plantas del control que no expresaban dicho FT (Dezar *et al.*, 2005).

Recientemente, este gen se incorporó al genoma de trigo y soja. Las variedades que expresaron el FT HaHB4 superaron a sus contrapartes de tipo silvestre (sin expresión de HaHB4) en una red de ensayos de campo que incluyeron una amplia gama de condiciones de crecimiento, balances hídricos y temperatura durante las etapas críticas del ciclo reproductivo (González *et al.*, 2019; Ribichich *et al.*, 2020). El efecto del gen se vio más marcado aún, cuando las temperaturas fueron superiores a las óptimas (González *et al.*, 2020).

Los estudios realizados en el cultivo de trigo fueron desarrollados utilizando el cultivar *Cadenza*, el cual presenta un ciclo demasiado largo para las condiciones ambientales exploradas en las zonas productoras de trigo de Argentina. Es por ello, que este trabajo está orientado a evaluar un cultivar *elite* adaptado a las condiciones ambientales de la zona triguera argentina, con y sin introgresión del gen HaHB4. Con el fin de comparar el comportamiento de los cultivares en un amplio rango de condiciones ambientales se abarcó un periodo de siembra amplio, exponiendo las etapas reproductivas del cultivo a diferentes condiciones hídricas y térmicas. Esta tesis genera información sobre esta nueva tecnología expresada en cultivares más adaptados y familiarizados con los productores argentinos.

<u>Hipótesis</u>

Un cultivar de trigo adaptado a la región pampeana con introgresión el gen HaHB4 disminuye menos su rendimiento ante algún estrés abiótico-climático (e.g. deficiencia hídrica y/o deficiencia hídrica y temperatura superior a la óptima) en comparación con el mismo cultivar sin presencia del gen.

Objetivos generales

Estudiar la generación de rendimiento en un cultivar *elite* de trigo con y sin el gen HaHB4 en condiciones de cultivo a campo bajo secano.

Objetivos específicos

 Determinar el rendimiento y sus componentes numéricos (número y peso de grano) y ecofisiológicos (generación de biomasa y partición a órganos reproductivos) en los cultivares evaluados. 2. Determinar el consumo de agua de los cultivares a 1,5 m de profundidad en distintos momentos del ciclo y estimar la eficiencia en el uso del agua.

Materiales y Métodos

Se realizó un ensayo en el campo experimental Rizobacter S.A. ubicado en la localidad de Pergamino (-33.8568181 S, -60.5395261 O), en un suelo Argiudol típico Serie Pergamino (Pe1 fase ligeramente erosionada, capacidad de uso 1-2).

Conducción del ensayo

Las siembras se realizaron los días 10/06, 26/06, 11/07, 27/07 del año 2018 y 17/05, 03/06, 02/07, 18/07, 31/07 del año 2019. Se utilizaron parcelas de 10 m² (unidades experimentales). El ensayo estuvo compuesto por dos tratamientos, una línea con el gen HaHB4 (línea HB4.25) y un testigo de la misma variedad con ausencia del gen HaHB4 (Algarrobo). La línea se originó de diferentes cruzamientos del cultivar dador del gen (IND- øø412-7) x cultivar elite (Algarrobo). Una vez obtenida la F1 se retrocruzaron por el cultivar elite dos veces (BC2) con asistencia de marcadores moleculares para recuperar más del 98% del fondo génico. Dentro de cada fecha de siembra se utilizó un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones. Los datos de lluvias y temperatura se obtuvieron de una central meteorológica que se encuentra a menos de 500m de la realización del ensayo. La evapotranspiración de referencia (ET0) se calculó de acuerdo a Hargreaves (1994). A partir de estos datos se determinó en qué fecha de siembra el cultivo exploró temperaturas superiores a la óptima y consumos de agua inferiores a la demanda.

Variables analizadas en el cultivo

En cada unidad experimental, se realizaron evaluaciones a campo con el fin de determinar el consumo de agua expresado como la diferencia de humedad gravimétrica entre muestreos sucesivos más las lluvias acumuladas. Las muestras se obtuvieron utilizando la técnica de muestreo de suelo con barreno hasta 1,5 m de profundidad en los estadios de emergencia (Z-1.0, escala Zadoks *et al*.1974), inicio de encañazón (Z-3.0) y madurez o pedúnculo amarillo (Z-8.7). Coincidente con la medición de agua en el suelo, se realizaron en cada unidad experimental muestreos vegetales para determinar la producción de biomasa aérea en madurez muestreando 1 m lineal evitando los surcos laterales de bordura. En dicho momento se cosechó 0.32m² de cada

parcela para determinar el rendimiento en grano. El PG se estimó utilizando un contador automático de granos, contando los granos presentes en 4 g de muestra. A partir del dato de rendimiento y el PG se estimó el NG. Los datos tomados a campo fueron sometidos a Análisis de varianza, utilizando el Software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2019). Para ello, cada combinación de fecha de siembra*año se consideró como un ambiente diferente, mientras que los bloques se consideraron anidados dentro de los ambientes.

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{i(i)} + \gamma_k + (\alpha \times \gamma)_{ik} + [\beta \times \alpha]_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde μ es la media general, α i es el efecto del ith ambiente (i = 7); β j(i) es el efecto del jth bloque anidado dentro del ambiente (j = 3), γ k es el efecto del kth cultivar (k = 2). El termino $(\alpha \times \gamma)_{ik}$ corresponde a la interacción ambiente x cultivar; $[\beta \times \alpha]$ ij es el error (a); ϵ ijk es el error (b).

Resultados y discusión

Fenología externa

Se observó un acortamiento leve en el ciclo del cultivo para la isolínea modificada genéticamente. Para el periodo de primer nudo, el rango de variación promedio entre los dos años fue de cero a cuatro días, para Antesis fue de dos a seis días y para Pedúnculo Amarillo fue de dos a cuatro días, dependiendo de las fechas de siembra y del año (Tabla 1). La introgresión de HaHB4 no modificó el patrón de senescencia del cultivo. Estos resultados coinciden con los observados previamente con el cultivar Cadenza, donde el efecto sobre la fenología de la introgresión del gen HaHB4 fue aún menor (González et al., 2020).

Tabla 1. Relevamiento fenológico externo.

Año	Fecha de Siembra	Genotipo	1 nudo	Antesis	Pedúnculo Amarillo
	10/6/2018	Algarrobo	15-sep	10-oct	18-nov
	10/0/2016	HB4.25	14-sep	4-oct	14-nov
	26/6/2018	Algarrobo	21-sep	15-oct	22-nov
2018	20/0/2018	HB4.25	21-sep	11-oct	20-nov
2016	11/7/2018	Algarrobo	26-sep	21-oct	29-nov
		HB4.25	25-sep	18-oct	27-nov
	27/7/2018	Algarrobo	12-oct	3-nov	7-dic
		HB4.25	9-oct	28-oct	4-dic
	17/5/2019	Algarrobo	3-sep	6-oct	Perdida por granizo
		HB4.25	29-ago	3-oct	Perdida por granizo
	3/6/2019	Algarrobo	15-sep	12-oct	Perdida por granizo
		HB4.25	14-sep	7-oct	Perdida por granizo
2019	2/7/2019	Algarrobo	30-sep	20-oct	22-nov
2019	2/1/2019	HB4.25	26-sep	18-oct	20-nov
	18/7/2019	Algarrobo	8-oct	27-oct	28-nov
	16/7/2019	HB4.25	7-oct	25-oct	26-nov
	31/7/2019	Algarrobo	17-oct	4-nov	1-dic
	31/1/2019	HB4.25	14-oct	2-nov	29-nov

Agua disponible a la siembra y ambientes explorados

El agua útil (AU) a la siembra osciló entre 147 y 187 mm con variaciones entre las fechas de siembra y año, registrándose mejor condición para las FS 2, 3 y 4 durante el año 2019 con disponibilidades que superaron levemente los 170 mm, al igual que la FS 1 y 4 del año 2018. Para el resto de las fechas se obtuvieron registros algo menores (Gráfico 1).



Gráfico 1. Agua disponible a la siembra para las distintas fechas de siembra de los años 2018 y 2019.

Las lluvias acumuladas durante la estación de cultivo (entre el 01/06 y el 01/12) fueron de 275 mm para 2018, mientras que para el mismo periodo durante la campaña 2019 alcanzaron los 215 mm (Gráficos 2 y 3).

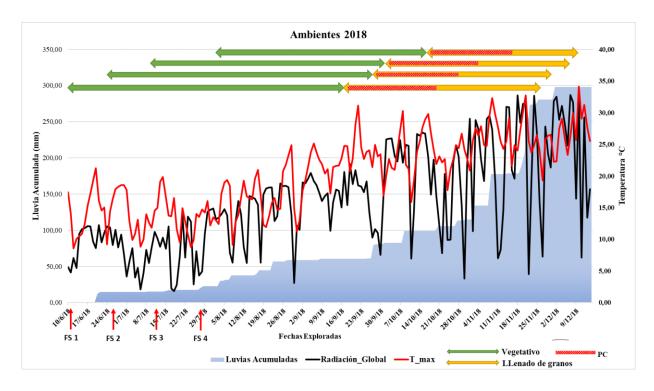


Gráfico 2. Variables climáticas para las distintas fechas de siembra del año 2018.

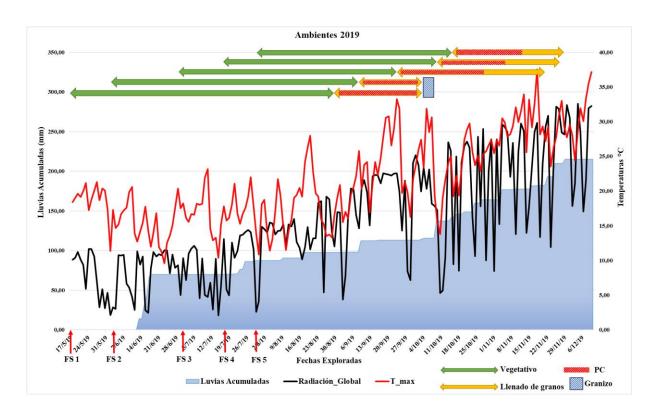


Gráfico 3. Variables climáticas para las distintas fechas de siembra del año 2019.

La distribución de estas precipitaciones se dio para 2018 con lluvias más importantes hacia el fin del ciclo del cultivo y durante 2019 con lluvias más importantes en el inicio del cultivo. Esto impactó sobre el agua disponible total (AU + Recargas) entre las diferentes fechas de siembra promedió los 415 mm para la campaña 2018, mientras que para el año 2019 promedió los 283 mm (Gráfico 4).

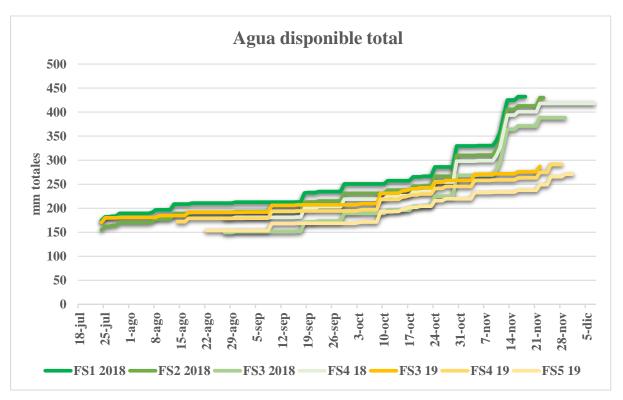


Gráfico 4. Agua disponible total para las distintas fechas de siembra de los años 2018 y 2019.

En general, el ambiente explorado por el cultivo durante la etapa reproductiva fue más fresco durante el 2018 (16.67°C) que el 2019 (17.19°C), lo cual se reflejó también en el Coeficiente fototermal (Q= Radiación incidente/Temperatura), siendo mayor en 2018 y menor en 2019 (Tabla 2). Sin embargo, la combinación de fechas de siembra y años nos permitió explorar 7 ambientes durante la etapa reproductiva del cultivo pre (1Nudo-Antesis) y post antesis (Antesis- Madurez fisiológica, estimada como pedúnculo amarillo) (Gráficos 2 y 3 y Tabla 2). Para el período pre antesis se registraron lluvias variables sin diferencias marcadas entre ambientes. Se observó un aumento de la temperatura media asociada al retraso en la fecha de siembra para los ambientes del mismo año ocurriendo una disminución del Q entre ambientes a medida que se retrasó la fecha de siembra. Para el período post antesis observamos una reducción importante de las precipitaciones para los ambientes del año 2019 acompañado de un aumento de la temperatura la cual promedió 18.99 °C para los ambientes de 2018 y 21.58 °C para los ambientes de 2019. El valor Q fue menor para los ambientes de 2019 en todos los ambientes comparados con 2018.

Tabla 2. Promedio de temperatura media diaria, coeficiente fototermal diario (relación entre la radiación y la temperatura media) y precipitaciones acumuladas para los estadios comprendidos entre 1 Nudo-Antesis y Antesis-Madurez fisiológica para cada ambiente.

	Ambiente	Fecha de Siembra	Precipitaciones	T° media	Q
	1	10/06/2018	38,00	16,63	1,13
	2	26/06/2018	24,75	16,41	1,21
	3	11/07/2018	31,38	16,53	1,25
1N - Antesis	4	27/07/2018	53,88	17,10	1,11
	5	02/07/2019	34,38	16,80	1,08
	6	18/07/2019	46,25	17,16	1,09
	7	31/07/2019	30,25	17,62	1,11
	Ambiente	Fecha de Siembra	Precipitaciones	T° media	Q
	1	10/06/2018	178,25	18,29	1,14
	2	26/06/2018	183,63	19,03	1,11
	3	11/07/2018	183,63	19,03	1,09
Antesis - PA	4	27/07/2018	141,75	19,63	1,22
	5	02/07/2019	40,25	20,82	1,08

6	18/07/2019	47,75	21,68	1,06
7	31/07/2019	44,88	22,25	1,10

Las pequeñas diferencias de fenología entre los cultivares estudiados generaron algunos cambios en las condiciones exploradas entre ellos dentro de cada ambiente (Tabla 3), siendo estas menores a las diferencias entre ambientes.

Tabla 3. Promedio de temperatura media diaria, coeficiente fototermal diario (relación entre la radiación y la temperatura media) y precipitaciones acumuladas para los estadios comprendidos entre 1 Nudo-Antesis y Antesis-Madurez fisiológica que exploró cada cultivar en los distintos ambientes.

Ambiente	Fecha de siembra	Genotipo	Periodo	Precipitaciones mm	T° media °C	Q
		Algarrobo	1N - Antesis	38,00	16,64	1,18
1	10/06/2018	Algailobo	Antesis - PA	181,75	18,42	1,11
1	10/00/2018	HB4-25	1N - Antesis	38,00	16,62	1,08
		ПВ4-23	Antesis - PA	174,75	18,15	1,16
		Algarrobo	1N - Antesis	24,75	16,41	1,23
2	26/06/2018	Algailobo	Antesis - PA	192,25	19,25	1,09
2	20/00/2016	HB4-25	1N - Antesis	24,75	16,40	1,20
		HD4-23	Antesis - PA	175,00	18,81	1,13
		Algarrobo	1N - Antesis	32,00	16,64	1,24
3	11/07/2018	Algarrobo	Antesis - PA	183,00	19,09	1,10
3		HB4-25	1N - Antesis	30,75	16,43	1,26
			Antesis - PA	184,25	18,97	1,08
	27/07/2018	Algarrobo HB4-25	1N - Antesis	72,25	17,41	1,09
4			Antesis - PA	120,00	19,72	1,25
+			1N - Antesis	35,50	16,78	1,14
			Antesis - PA	163,50	19,55	1,19
	02/07/2019	Algarrobo	1N - Antesis	35,50	16,48	1,10
5			Antesis - PA	44,75	21,04	1,05
3		HB4-25	1N - Antesis	33,25	17,12	1,06
		11D+ 23	Antesis - PA	35,75	20,60	1,10
		Algarrobo	1N - Antesis	48,25	17,43	1,09
6	18/07/2019	7 Hgairiobo	Antesis - PA	45,75	21,66	1,07
	10/07/2019	HB4-25	1N - Antesis	44,25	16,90	1,09
		11D4-23	Antesis - PA	49,75	21,70	1,05
7		Algarrobo	1N - Antesis	34,00	18,22	1,14
	31/07/2019	Aigailooo	Antesis - PA	38,50	22,26	1,11
,		HB4-25	1N - Antesis	26,50	17,02	1,08
		1107-23	Antesis - PA	51,25	22,25	1,09

Rendimiento y componentes numéricos y ecofisiológicos

Independientemente del cultivar utilizado, se observaron diferencias entre los ambientes (P<0.0001) para las variables estudiadas en el cultivo (Tabla 4).

Para los ambientes explorados durante la campaña 2018 (1 a 4), el ambiente 4 fue el que presentó menor rendimiento (Tabla 4), principalmente asociado a los menores aportes hídricos durante post-antesis y a las mayores temperaturas exploradas durante pre- y post antesis (Tabla 2). La caída en rendimiento estuvo asociada a una tendencia a presentar menor número de granos, y a un menor peso de granos, respecto a las fechas de siembra previas. En forma similar, tanto la biomasa total como el IC fueron menores en relación a las fechas previas (Tabla 4). Los ambientes explorados durante 2019 (5, 6 y 7) tendieron a presentar menor rendimiento que los del 2018 ya que estuvieron caracterizados por una menor oferta hídrica generalizada y mayores temperaturas medias durante las etapas de generación de rendimiento (Tabla 2). Todos los componentes del rendimiento tendieron a ser menores (NG, PG, BT e IC) (Tabla 4).

Tabla 4. Rendimiento (RTO), número de granos (NG), peso de mil granos (P1000), biomasa total (BT) e índice de cosecha (IC), para los ambientes explorados. Letras distintas dentro de la columna indican diferencias estadísticas (Tukey alfa = 0.05).

Ambiente	RTO g/m2		NG n/m2 p		PG p 1000g	_		BT g/m2		IC	
1	841,90	a	25296,07	a	33,68	a	1685,87	a	0,50	a	
2	778,23	a	23195,98	a	33,63	a	1620,84	a	0,48	a	
3	622,50	b	22299,58	ab	28,02	b	1224,74	b	0,47	ab	
4	443,98	c	21591,76	ab	20,75	d	1075,76	bc	0,41	bc	
5	429,45	c	17511,03	bc	24,53	c	1018,68	c	0,42	c	
6	338,45	cd	17305,11	bc	19,58	d	907,97	cd	0,37	cd	
7	280,98	d	15461,72	c	18,23	d	809,47	c	0,35	d	

Al observar el comportamiento de los cultivares, hubo una tendencia a interacción Cultivar * Ambiente (P=0.0977). En 4 de los 7 ambientes estudiados HB4.25 tendió a superar a Algarrobo. Estos resultados favorables hacia HB4.25 fueron registrados en

los ambientes con mayor restricción hídrica y/o temperaturas medias más elevadas como lo explorado en los ambientes 4, 5, 6 y 7 (Gráfico 5).

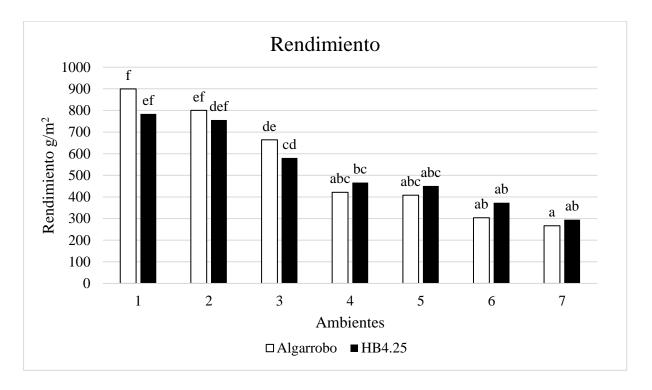


Gráfico 5. Rendimiento para HB4.25 y Algarrobo en los ambientes estudiados. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey alfa =0.05).

Cuando las diferencias son expresadas mediante el rendimiento relativo de HB4.25 vs Algarrobo observamos en promedio una tendencia a reducción de 10.6% para HB4.25 en ambientes favorables (1, 2 y 3). Mientras que al explorar ambientes con menor oferta hídrica y/o temperaturas medias superiores, HB4.25 logra en promedio un aumento de 13.5% respecto a Algarrobo (Gráfico 6). Estos resultados fueron similares a los encontrados con anterioridad para el cultivar Cadenza donde se observaron incrementos promedios para rendimiento en grano de 6% a favor del genotipo modificado en un gran número de ambientes. En aquellos menos estresantes las respuestas fueron variables con resultados positivos y negativos. Cuando se compararon solo los ambientes secos (balance hídrico negativo) la diferencia ascendió a 16% y llegó a 20% cuando el ambiente seco se combinó con temperaturas medias elevadas (>20°C) (González *et al.*, 2020).

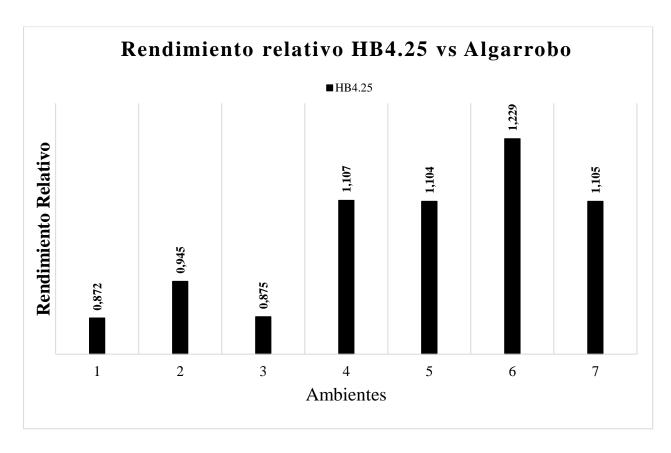


Gráfico 6. Rendimiento relativo de HB4.25 vs Algarrobo en los ambientes estudiados.

Con el fin de evaluar estadísticamente el comportamiento diferenciado de estos cultivares, se agruparon los ambientes de acuerdo a la performance relativa entre ellos. El primer grupo de ambientes estuvo compuesto por los ambientes 1, 2 y 3, donde Algarrobo tendió a mostrar una performance relativa superior a HB4.25 debido a que las condiciones climáticas durante la generación de rendimiento fueron más benévolas, con mayores precipitaciones y menores temperaturas medias (Tabla 2). El segundo grupo estuvo compuesto por los ambientes 4, 5, 6, y 7 donde HB4.25 mostró mejor performance, coincidiendo con que el cultivo estuvo expuesto a condiciones hídricas/térmicas menos favorables durante las etapas de generación de rendimiento (Tabla 2).

En promedio para los ambientes 1-2-3 no se observaron diferencias significativas entre los cultivares para ninguna de las variables estudiadas (Tabla 5), si bien se observó una tendencia de mejor performance de Algarrobo. En cambio, para el promedio de los ambientes 4-5-6-7, el RTO, NG y BT fueron superiores (P<0.05) para HB4.25 respecto a Algarrobo. El PG e IC no mostraron diferencias significativas entre cultivares. Esto coincide con lo hallado para el cultivar Cadenza donde las diferencias en rendimiento a

favor del genotipo modificado estuvieron explicadas por el NG y la BT sin modificaciones sobre el PG e índice de cosecha (González *et al.*, 2020).

Tabla 5. Resumen ANOVA para las variables estudiadas por grupo de ambientes. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey alfa =0.05).

Ambiente	Genotipo	RTO g/m ²		$\frac{NG}{n/m^2}$	PG p 1000gr	$\frac{BT}{g/m^2}$	IC
1-2-3	Algarrobo	835,13	a	26510,81 a	31,59 a	1681,23 a	0,49 a
	HB4.25	754,33	a	24585,28 a	30,46 a	1507,44 a	0,48 a
4-5-6-7	Algarrobo	373,89	b	18193,11 b	20,74 a	957,60 b	0,39 a
	HB4.25	419,71	a	20157,94 a	20,79 a	1030,20 a	0,40 a

Consumo y eficiencia en el uso de agua

El consumo de agua durante el ciclo del cultivo varió entre ambientes (P<0.0001), sin efecto del cultivar (Gráfico 7). El consumo de agua fue más alto para los ambientes 1, 2, 3 y 4 correspondientes al año 2018, mostrando diferencias significativas entre ellos a excepción del ambiente 2 vs 3. Para los ambientes 5, 6 y 7 correspondientes al año 2019 el consumo de agua se redujo significativamente respecto a 2018, pero sin lograr diferencia estadística entre ellos.

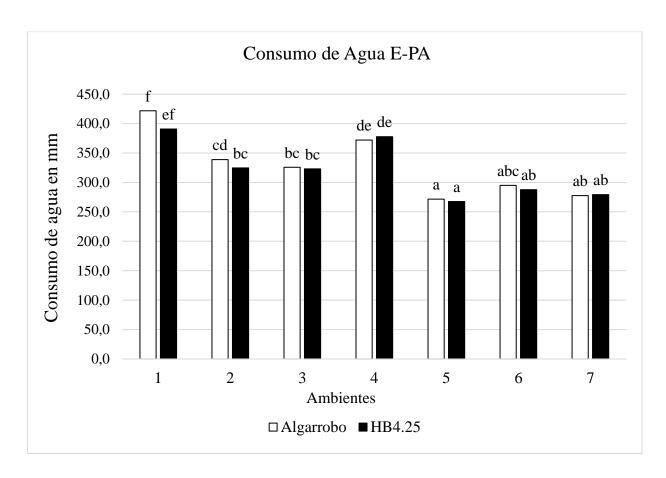


Gráfico 7. Consumo de agua durante el periodo Emergencia (E) – Pedúnculo Amarillo (PA) para HB4.25 y Algarrobo en los ambientes estudiados. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey alfa =0.05).

En forma similar, la EUA_{BT} y la EUA_{RTO} sólo fueron modificadas por el ambiente (P<0.0001), sin efecto del cultivar. La EUA_{BT} se redujo significativamente para el ambiente 4 vs 1, 2 y 3 correspondientes al año 2018. No observamos diferencias significativas para los ambientes 5, 6 y 7. El ambiente 4 logró una eficiencia similar a los ambientes 5, 6 y 7.

Para la EUA_{RTO} se pudieron observar tendencias a mayores eficiencias logradas en los ambientes 1, 2 y 3 y menores eficiencias para el resto de los ambientes explorados, encontrando en los ambientes 4, 6 y 7 los menores valores.

Si bien las EUA no fueron estadísticamente diferentes entre los cultivares, se pudo apreciar una tendencia a mayores valores de HB4.25 respecto a Algarrobo en los ambientes más estresantes (4, 5, 6 y 7) (Gráficos 8 y 9). Previamente para el cultivar Cadenza, González et al. (2020) describió un aumento promedio de 9,4% en la EUARTO en el genotipo modificado y, en aquellos ambientes con menores precipitaciones, el valor ascendió a 14,2%.

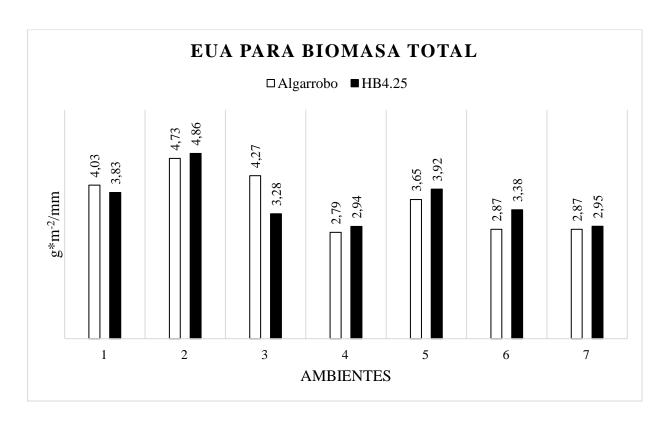


Gráfico 8. EUA para Biomasa Total producida para Algarrobo y HB4.25 en los distintos ambientes explorados.

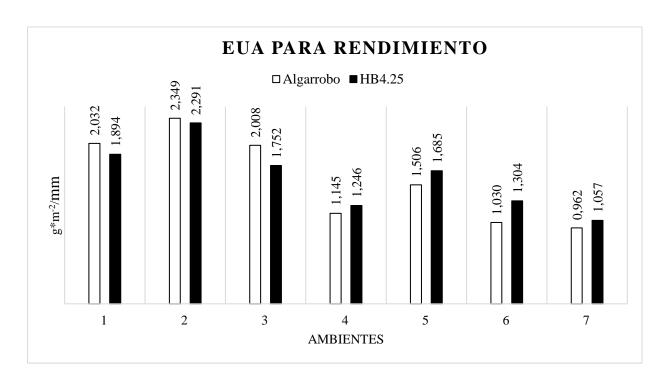


Gráfico 9. Eficiencia en el uso del agua para la generación de rendimiento en grano para Algarrobo y HB4.25 en los distintos ambientes explorados.

La medida del consumo de agua desde emergencia involucra un gran error debido al componente de evaporación directa del suelo en los estadios iniciales del cultivo. Por ello, el consumo de agua se calculó también solo para la etapa reproductiva (desde inicio de encañazón, 1N, hasta madurez fisiológica). Sin embargo, al realizar el ANOVA sólo se detectó efecto del ambiente (P<0.0001). En 5 de 7 ambientes el consumo de agua por parte de HB4.25 mostró una tendencia a ser menor durante las etapas de generación de rendimiento, solo superando a Algarrobo en los ambientes 4 y 6, aunque sin observarse significancia entre genotipos (Gráfico 10). Es notable destacar que en los ambientes 4 y 6 es donde la diferencia relativa de rendimiento fue mayor al comparar HB4.25 y Algarrobo.

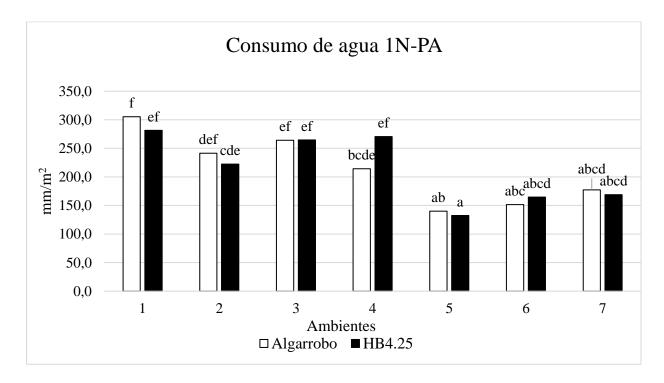


Gráfico 10. Consumo de agua para Algarrobo y HB4.25 durante el periodo 1N-PA en los distintos ambientes explorados. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey alfa =0.05).

Rendimiento relativo y déficit hídrico

Cuando el rendimiento relativo se relacionó con el déficit hídrico durante la etapa reproductiva (1Nudo-Madurez) (Agua disponible a 1,5 m en 1N+ Iluvias - ET0) se pudo observar una regresión lineal significativa (r²=80% P=0.0044, Gráfico 11). El rendimiento relativo fue mayor en HB4.25 en las situaciones con déficit hídrico, incrementándose 0,18% por cada mm de déficit. Cuando no hubo déficit el rendimiento relativo de HB4.25 fue menor al 100%.

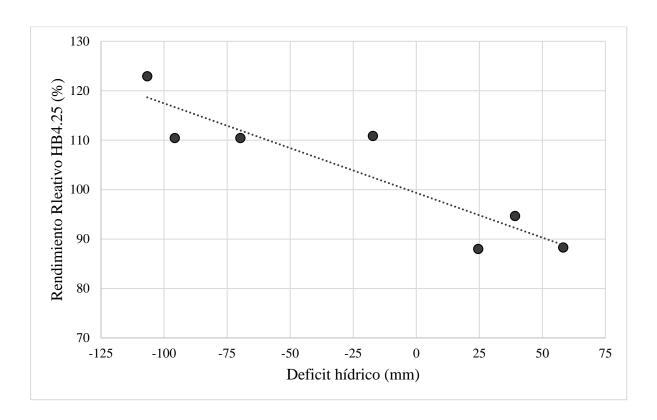


Gráfico 11: Relación entre el rendimiento relativo de HB4.25 ((HB4.25/Algarrobo)*100) y el déficit hídrico durante la etapa reproductiva (agua 1.5 m en 1Nudo+lluvias-ET0 durante etapa reproductiva). r²=83%, y=99.35-0.18X, P=0.0044)

Conclusiones

Los cultivares evaluados presentaron una respuesta diferenciada en los ambientes estudiados. El cultivar de trigo con la introgresión del gen HaHB4 tuvo un rendimiento superior en los ambientes con déficit hídrico durante la etapa reproductiva y/o temperaturas medias elevadas, incrementado 0.18% su rendimiento por cada mm de déficit. Esta respuesta estuvo relacionada a sostener un mayor número de granos cosechables y una mayor producción de biomasa total sin modificación del índice de cosecha. El consumo de agua durante la etapa reproductiva tendió a ser menor para el genotipo modificado y las eficiencias en el uso de agua tendieron a ser mayor para el cultivar modificado en los ambientes más estresantes.

Si bien el alcance de este trabajo resulta limitado para concluir los efectos de incorporar la tecnología HaHB4 en un cultivar adaptado a la región, provee una aproximación de las respuestas esperables para las combinaciones de variables climáticas exploradas durante el estudio. Teniendo en cuenta que la probabilidad de explorar algún grado de déficit hídrico durante los meses de ocurrencia de la etapa reproductiva es cercana al 80% para las condiciones de nuestra región, la adopción de este tipo de tecnología

puede significar una herramienta de manejo importante a la hora de sostener la productividad interanual.

Bibliografía

Aramburu Melos, F., Monzon, J. P., Mercau, J. L., Taboada, M., Andrade, F. H., Hall, A. J., Jobbagy, E., Cacsman, K., Grassini, P. (2015). *Potential for crop production increase in Argentina through closure of existing yield gaps.* Field Crops Research, 184, 145–154.

Bolsa de Comercio de Rosario. (2021). Estimaciones Nacionales de Producción. Consultado el 15 de marzo de 2021, de https://www.bcr.com.ar/es/mercados/gea/estimaciones-nacionales-de-produccion/estimaciones.

Dezar, C. A., Gago, G. M., Gonzalez, D. H., y Chan, R. L. (2005). *Hahb-4, a sunflower homeobox-leucine zipper gene, is a developmental regulator and confers drought tolerance to Arabidopsis thaliana plants.* Transgenic Res., 14, 429–440. doi: 10.1007/s11248-005-5076-0.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. (2019). *InfoStat versión 2019*. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar

Fischer, R. A., Connor, D. J. (2018). *Issues for cropping and agricultural science in the next 20 years*. Field Crops Res., 222, 121-142.

Gago, G. M., Almoguera, C., Jordano, J., Gonzalez, D. H., y Chan, R. L. (2002). *Hahb-4, a homeobox-leucine zipper gene potentially involved in abscisic acid-dependent responses to water stress in sunflower.* Plant Cell and Environment, 25, 633–640.

Gonzalez, F. G., Capella, M., Ribichich, K. F., Curín, F., Giacomelli, J. I., Ayala, F., Watson, G., Otegui, M. E., Lía Chang, R. (2019). *Field-grown transgenic wheat expressing the sunflower gene HaHB4 significantly outyields the wild type*. Journal of Experimental Botany, 70(5), 1669–1681.

Gonzalez, F. G., Rigalli, N., Miranda, P. M., Romagnoli, M., Ribichich, K. M., Trucco, F., Portapila, M., Otegui, M. E., Lía Chang, R. (2020). *An Interdisciplinary Approach to Study the Performance of Second-generation Genetically Modified Crops in Field Trials: A Case Study With Soybean and Wheat Carrying the Sunflower HaHB4 Transcription Factor.* Frontiers in Plant Science, 11, Article 178.

Manavella, P. A., Arce, A. L., Dezar, C. A., Bitton, F., Renou, J. P., Crespi, M., et al. (2006). *Cross-talk between ethylene and drought signaling pathways is mediated by the sunflower Hahb-4 transcription factor.* Plant J., 48, 125–137. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02865.x

Palena, C. M., González, D. H., y Chan, R. L. (1999). *A monomer-dimer equilibrium modulates the interaction of the sunflower homeodomain leucine-zipper protein Hahb-4 with DNA*. Biochem. J., 341, 81–87.

Passioura, J. B. (1996). *Drought and drought tolerance*. Plant Growth Reg., 20, 77-83.

Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C., Foley, J. A. (2013). *Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050.* PlosOne, 8(6), e66428.

Ribichich, K. F., Chiozza, M., Ávalos-Britez, S., Cabello, J. V., Arce, A. L., Watson, G., et al. (2020). Successful field performance in dry-warm environments of soybean expressing the sunflower transcription factor HaHB4. J. Exp. Bot. doi: 10.1093/jxb/eraa064.

Satorre, E. H., Benech Arnold, R. L., Slafer, G. A., De La Fuente, E. B., Miralles, D. J., Otegui, M. E., Savin, R. (2018). *Producción de Granos: bases funcionales para su manejo.* 1ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires.

Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., Befort, B. L. (2011). *Global food demand and the sustainable intensification of agriculture*. Proc Natl Acad Sci U S A, 108, 20260-20264.

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