



# Naturalis

Repositorio Institucional  
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata  
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



## Contribución de la fotosíntesis de la espiga al rendimiento de trigo pan (*Triticum aestivum*) en condiciones limitadas por la disponibilidad de asimilados post-antesis

**Maydup, María Luján**

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Tambussi, Eduardo

Co-dirección: Guiamet, Juan José

Facultad de Ciencias Naturales y Museo  
2013

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20130909001296>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



# Naturalis

Repositorio Institucional  
FCNyM - UNLP



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO  
INSTITUTO DE FISIOLÓGIA VEGETAL (INFIVE)

CONTRIBUCIÓN DE LA FOTOSÍNTESIS DE LA ESPIGA AL  
RENDIMIENTO DE TRIGO PAN (*Triticum aestivum*) EN  
CONDICIONES LIMITADAS POR LA DISPONIBILIDAD DE  
ASIMILADOS POST-ANTESIS

Autor: Lic. María Lujan MAYDUP

Director: Dr. Eduardo TAMBUSI

Co-director: Dr. Juan José GUIAMET

TESIS DOCTORAL

La Plata

Argentina

2013



## ÍNDICE

Índice .....	1
Agradecimientos .....	6
Resumen .....	8
Abstract .....	12
Capítulo 1. Introducción general	
1.1 El trigo como cultivo en el mundo .....	15
1.2 El cultivo de trigo en Argentina .....	17
1.3 Desarrollo fenológico de la planta de trigo .....	19
1.4 Componentes del rendimiento .....	22
1.4.1 La relación fuente-destino y el rendimiento .....	23
1.4.2 Efectos de la mejora sobre los componentes del rendimiento y posible limitación por fuente en cultivares modernos.....	26
1.4.3 Estréses abióticos y bióticos .....	28
1.5 La fotosíntesis de la espiga como fuente de asimilados para el llenado	30
1.6 Objetivos e hipótesis de trabajo .....	32
1.7 Bibliografía .....	35
Fotosíntesis de la espiga y su papel buffer en el llenado del grano en condiciones adversas: cuantificación mediante diferentes aproximaciones experimentales.	
2.1 Introducción .....	40
2.2 Materiales y métodos .....	42
2.2.1 Experimento (I): Encapuchado más desfoliado .....	45
2.2.2 Experimento (II): Encapuchado más estrés hídrico .....	48
2.2.3 Experimento (III): Sombreado con mallas.....	49

2.2.4	Experimento (IV): Inhibición específica del fotosistema II...	53
2.3	Resultados	
2.3.1	Experimento (I): Encapuchado más desfoliado .....	56
2.3.2	Experimento (II): Encapuchado más estrés hídrico.....	61
2.3.3	Experimento (III): Sombreado con mallas.....	65
2.3.4	Experimento (IV): Inhibición específica del fotosistema II...	70
2.4	Discusión .....	72
2.5	Conclusiones .....	81
2.6	Bibliografía .....	82

Capítulo 3.	La contribución de la espiga al llenado de granos en cultivares antiguos y modernos de trigo: evidencias de la mejora en el siglo pasado	
3.1	Introducción .....	85
3.2	Materiales y métodos .....	87
3.2.1	Experimento (V): Estudio retrospectivo de la contribución de la espiga.....	87
3.2.2	Experimento (VI): Contribución de la espiga de cuatro líneas isogénicas con diferentes alelos de enanismo.....	93
3.3	Resultados	
3.3.1	Experimento (V): Estudio retrospectivo de la contribución de la espiga.....	95
3.3.2	Experimento (VI): Contribución de la espiga de cuatro líneas isogénicas con diferentes alelos de enanismo.....	108
3.4	Discusión .....	112
3.5	Conclusiones .....	118
3.6	Bibliografía .....	119

Capítulo 4.	El rol de las aristas de trigo pan ( <i>Triticum aestivum</i> L.) durante el llenado de granos: aspectos fisiológicos y su contribución	
-------------	---	--

	fotosintética	
4.1	Introducción .....	123
4.2	Materiales y métodos .....	127
4.2.1	Experimento (VII) Estudio de la fotosíntesis de la hoja bandera, del cuerpo de la espiga y de las aristas durante el llenado.....	128
4.2.2	Experimento (VIII) Análisis del rol de las aristas en el balance térmico en la espiga.....	130
4.2.3	Experimento (IX) Respuesta diferencial de la hoja bandera <i>versus</i> aristas al déficit hídrico.....	131
4.2.4	Experimento (X) Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos de Argentina.....	133
4.2.5	Experimento (XI) Evaluación del tamaño de las aristas en variedades antiguas y modernas de trigo y su relación a la contribución (estudio retrospectivo).....	136
4.3	Resultados	
4.4	Experimento (VII) Estudio de la fotosíntesis de la hoja bandera, del cuerpo de la espiga y de las aristas durante el llenado.....	138
4.5	Experimento (VIII) Análisis del rol de las aristas en el balance térmico en la espiga.....	141
4.6	Experimento (IX) Respuesta diferencial de la hoja bandera <i>versus</i> aristas al déficit hídrico.....	145
4.7	Experimento (X) Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos de Argentina.....	147
4.8	Experimento (XI) Evaluación del tamaño de las aristas en variedades antiguas y modernas de trigo y su relación a la contribución (estudio retrospectivo).....	150

4.9	Discusión .....	152
4.10	Conclusiones .....	160
4.11	Bibliografía .....	161
	Conclusiones generales .....	164

## **Agradecimientos**

En primer lugar agradecer a todos mis amigos de la vida que me han acompañado, tanto en los momentos de relax como en los de estrés, y a los compañeros y amigos del Instituto con los que compartí tantas horas de mate y trabajo durante estos cuatro años. En particular quiero agradecer al Dr. Eduardo Tambussi, no sólo por aceptarme para hacer mi tesis doctoral, sino también por la buena predisposición para conmigo, en todo momento. A la Lic. Mariana Antonietta, un muy especial agradecimiento, es una compañera excelente y una gran amiga. A la Dra. Corina Graciano, un especial agradecimiento por haberme acompañado en buena parte de los primeros experimentos a campo. Al Dr. Juan José Guiamet por haberme recibido en el Instituto y estar siempre dispuesto a charlar cualquier tema.

Al personal de Apoyo CONICET Laura Fernández y a Santiago Martínez debo agradecer por la ayuda en los experimentos de campo. Al personal no docente del INFIVE, Sr. Pedro Subeldía por la colaboración en los experimentos realizados en macetas.

Por la colaboración en el procesado de muestras tengo que agradecer enormemente a Eduardo Tambussi y a Marina Antonietta.

- A la Dra. Corina Graciano (INFIVE) le agradezco por las medidas de potencial hídrico.
- A Patricio Fluxa, Centro de Investigaciones Ópticas, Universidad Nacional de La Plata, CONICET. Por la colaboración en los análisis de las fotografías infrarrojas.
- A la Cátedra de Cereales de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP) por el uso de la trilladora.
- Al personal de la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos (UNLP) debo agradecer por la siembra y mantenimiento de los experimentos realizados en La Plata. En particular al Ing. Pablo Etchevers y a Sr. Rochetti.
- Al Ing. Agr. Juan Ramón López (INTA) por el experimento de Bordenave.

Por las semillas brindadas:

- A Los bancos de germoplasma de los Criadero Klein S. A. y de Buck Semillas S. A. por el germoplasma de la serie histórica.
- Al Ing Agr. José Bariffi (INTA Balcarce) por las semillas de cultivares comerciales de trigo.
- A los evaluadores de esta Tesis, los Dres. Dr. Flavio A. Blanco, Daniel Miralles y Román Serrago, por los aportes que propiciaron la mejora del manuscrito.

El trabajo de esta Tesis fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 32827) y CONICET (PIP 0235)

Debo agradecer a CONICET por las Becas tipo I y Tipo II que me permitieron realizar este doctorado.

También quiero agradecer con todo mi corazón a Adrián, que me acompañó cada día. Y un eterno agradecimiento será siempre para mi familia, que a pesar de seguramente aún hoy, no entender por qué sigo estudiando tanto, me apoyaron incondicionalmente.

## Resumen

Las partes verdes de la espiga (e.g. brácteas, aristas) son fuente de asimilados en cereales C<sub>3</sub>. Sin embargo, la contribución de la fotosíntesis de la espiga en trigo pan (*Triticum aestivum* L.) es menos conocida que el resto de las fuentes de asimilados (v.g. fotosíntesis de la hoja bandera, retranslocados del tallo). En trigo es ampliamente aceptado que la limitación por fuente no está presente en cultivares antiguos (Kruk et al. 1997; Borrás et al. 2004). Sin embargo, en germoplasma moderno, la limitación por fuente podría estar emergiendo (e.g. Álvaro 2008a). En este contexto los asimilados fijados por los órganos verdes de la espiga (v.g. glumas y aristas) podrían ser más relevante para sostener el llenado de granos.

Capítulo 2: El principal objetivo de este capítulo fue evaluar la contribución de la espiga mediante tres aproximaciones experimentales diferentes: (1) reduciendo la fotosíntesis de la espiga por remoción de las aristas o sombreado de las espigas (combinados con un tratamiento de desfoliado) y (2) comparando el peso de granos por espiga, en cultivos completamente sombreados *versus* plantas donde únicamente se les sombreó la parte vegetativa ('espigas emergiendo') y (3) reduciendo la fotosíntesis de la espiga con DCMU (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea) un inhibidor específico del fotosistema II.

En experimentos a campo en La Plata (Argentina), los cultivares Klein Escudo and Biolnta 3000, fueron sujetos a los tratamientos de remoción de las aristas, sombreado de espigas, con y sin desfoliación, y a los tratamientos de 'sombreado total' vs. el de 'espigas emergiendo'. Aunque la estimación de la contribución de la fotosíntesis de la espiga difirió, dependiendo de la aproximación experimental usada (desde 12 a 42%), el cv. Escudo (con mayor proporción de aristas) mostró una mayor contribución en la fotosíntesis de la espiga. En ambos cultivares la mayor contribución de la espiga se encontró en plantas desfoliadas. La magnitud de esta contribución se relacionó positivamente con el largo de las aristas de cada

cultivar. La remoción de las aristas no tuvo un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre el peso de grano en el cultivar de aristas cortas (Biolnta 3000). El efecto del desaristado fue mayor en el cv. Escudo, alcanzando valores de reducción del peso de granos por espiga de ca. 15 y 19% en plantas no desfoliadas y desfoliadas respectivamente. En los dos cultivares, la posición de granos más afectada por la disminución de la fuente fotosintética fue la de los granos distales dentro de la espiguilla. La tasa fotosintética de la espiga (medida por IRGA) fue mayor en el cv Escudo que en el cv. Biolnta 3000.

También se analizó la contribución de la remobilización de los asimilados acumulados en pre-antesis (tallo + vainas). Comparando ambos cultivares, la materia seca translocada desde los tallos mostró el patrón opuesto a la contribución de la fotosíntesis de la espiga, *i.e.* fue mayor en el cv. Biolnta 3000 que en el cv. Escudo.

En Bordenave, Argentina, el sombreado de las espigas reveló una importante contribución de la fotosíntesis de la espiga al llenado de granos en el cv. Huenpan (un genotipo de aristas largas, y tolerante al déficit hídrico), tanto bajo condiciones de riego como de secano, mientras que en el cv. Baguette Premiun 11 (de aristas cortas) aparentemente no hubo efecto de la fotosíntesis de la espiga sobre el peso de granos.

Por último, la reducción de la fotosíntesis de la espiga con DCMU redujo el peso de granos por espiga en proporción similar al sombreado de las espigas por 'encapuchado'.

Capítulo 3: El principal objetivo de este capítulo fue: (1) analizar si la mejora empírica ha cambiado la contribución de la fotosíntesis de la espiga al llenado de granos, a través de un estudio retrospectivo con cultivares de trigo pan liberados en Argentina entre 1920 y 2008, y (2) estudiar si la introgresión de los alelos de enanismo han cambiado la contribución de la fotosíntesis de la espiga al llenado de granos, usando líneas isogénicas de un cultivar de trigo pan difiriendo en la presencia/ausencia en los alelos Rht.

En los dos experimentos se sombrearon espigas con papel aluminio para reducir la fotosíntesis, tanto en plantas intactas como desfoliadas. La contribución de la fotosíntesis de la espigase incrementó en los cultivares modernos, y esta contribución fue mayor en las plantas desfoliadas que en las intactas. La contribución de la espiga se correlacionó negativamente con la altura de planta ( $r^2= 0.62$  y  $0.71$  en plantas intactas y desfoliadas respectivamente) y especialmente con el peso de tallo ( $r^2= 0.75$  y  $0.80$  en plantas intactas y desfoliadas respectivamente). La eficiencia de materia seca retranslocada (es decir, la relación entre la materia seca retranslocada y el peso de tallo en antesis;  $DMT_e$ ) no se modificó considerablemente con el año de liberación de los cultivares. La contribución de asimilados pre-antesis al granos (CPA, *i.e.* la relación de reservas del tallo movilizadas y el peso de granos por espiga) claramente disminuyó en los cultivares más modernos. La correlación entre la contribución de la espiga y el tamaño de aristas fue despreciable en este estudio.

En las líneas isogénicas diferenciadas en los alelos de enanismo *Rht*, la contribución de la espiga fue mayor cuando los alelos estuvieron presentes, principalmente en plantas no desfoliadas. Sin embargo, no hubo una relación consistente entre el peso de tallo y las respectivas contribuciones de las espigas, sugiriendo que otros factores (además de los alelos de enanismo) están involucrados en el incremento de la contribución de la espiga en el estudio retrospectivo.

Capítulo 4: Los objetivos de este capítulo fueron: (1) estudiar la actividad fotosintética (tasa de transporte de electrones o ETR, indirectamente por fluorescencia de la clorofila) durante el llenado de granos, de la hoja bandera, el cuerpo de la espiga y de las aristas en dos cultivares con diferente contribución de la espiga al llenado de granos; (2) analizar la respuesta diferencial de la hoja bandera vs. las aristas al déficit hídrico mediante la medición de variables de estado hídrico (contenido relativo de agua, potencial hídrico) y actividad fotosintética (tasa de transporte de electrones o ETR); (3) estimar la influencia de la presencia/ausencia de

aristas en la temperatura del cuerpo de la espiga; (4) analizar si existe correlación entre el tamaño de las aristas vs. la contribución de las aristas/espiga al llenado de granos en seis variedades modernas de cultivares argentinos con distinto tamaño de aristas; (5) explorar si el tamaño de aristas han cambiado durante la última centuria (estudio retrospectivo). En este capítulo hemos reportado que (1) durante el final del llenado de los granos, las partes de la espiga (aristas y particularmente el cuerpo de la espiga, es decir glumas y lemmas) podrían tener mayor actividad fotosintética que la hoja bandera; (2) la presencia de aristas podría tener un efecto levemente favorable (*i.e.* enfriando) sobre la temperatura de la espiga durante la mañana, pero deletéreo (*i.e.* aumentando la temperatura de la espiga) después del mediodía; (3) una característica positiva de las aristas es una cierta “tolerancia” al déficit hídrico, manteniendo un contenido relativo de agua y una ETR mayor que la hoja bandera bajo sequía; (4) encontramos una correlación positiva (moderada bajo condiciones de secano) entre el tamaño de las aristas y la contribución de la espiga durante el llenado de granos y (5) en el análisis retrospectivo de los cultivares de trigo pan de Argentina no encontramos una clara tendencia a lo largo de la mejora del tamaño de las aristas ni de la contribución de las aristas durante el llenado de granos.

**Abstract:**

Green parts of the ear (e.g., bracts, awns) are sources of photosynthates in C<sub>3</sub> cereals. However, the contribution of ear photosynthesis to grain filling in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is less known compared with other sources of assimilates (e.g., flag leaf photosynthesis, C stem retranslocation). In wheat it is widely accepted that source limitation are not present in old cultivars. In modern germoplasm, however, source limitation could be emerging. In this context, assimilates fixed by green organs of the ear (e.g. awns) seems to be more relevant to sustain the grain filling.

Chapter 2: The main objective of this Chapter was to evaluate this contribution through three different experimental approaches: 1) ear photosynthesis was reduced by removing awns or shading the ears (in combination with a defoliation treatment), 2) another experimental approach was to compare grain weight per ear in an 'all shaded' crop *versus* plants where only the vegetative parts were shaded ('ear emerging'), and 3) finally, ear photosynthesis was reduced with DCMU (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea), a specific inhibitor of photosystem II.

In field experiments in La Plata (Argentina), cultivars Klein Escudo and BioInta 3000 were subjected to awn removal and ear shading treatments, with or without severe defoliation, and the 'all shade' vs. 'ear emerging' treatments. Although the estimated contribution of ear photosynthesis to grain yield differed depending on the experimental approach used (from about 12 to 42%), in general cv. Klein Escudo (with the highest proportion of awns) showed a greater contribution of ear photosynthesis to grain filling. In both cultivars, the percentage contribution of ear photosynthesis was larger for defoliated plants. The magnitude of this contribution was positively associated with the length of the awns of each cultivar. Awn removal had a non significant ( $p \leq 0.05$ ) effect on grain weight per ear ( $GW_{\text{ear}}$ ) in the short-awned cv. BioInta 3000. In cv. Klein Escudo, the effects of de-awning were larger, producing a decrease of ca.

15 and 19% of  $GW_{\text{ear}}$  in non-defoliated and defoliated plants respectively. In both cultivars, grains in a distal position within the spikelet (G3) were most affected by the decrease of the photosynthetic source. The photosynthetic rate of the ear (measured by IRGA) was higher in cv. Klein Escudo than in cv. Biolnta 3000.

We also analysed the contribution of remobilization of pre anthesis assimilates (stem *plus* sheaths). Comparing both cultivars, dry matter translocation from the stem showed the opposite pattern to the contribution of ear photosynthesis, i.e. it was higher in cv. Biolnta 3000 than in cv. Klein Escudo.

In Bordenave, Argentina, ear shading treatments revealed an important contribution of ear photosynthesis to grain yield in cv. Huenpan (a long awned, water-deficit tolerant genotype), either under water deficit or irrigation, whereas in cv. Baguette Premiun 11 (short awns) there was apparently no effect of ear photosynthesis on yield.

Finally, inhibition of ear photosynthesis with DCMU reduced grain weight per ear to a similar extent as ear shading.

Chapter 3: The main objectives of this chapter were: (i) to analyze if empirical breeding has changed the contribution of ear photosynthesis to grain filling through a retrospective study of cultivars of bread wheat released in Argentina between 1920 and 2008 and (ii) to study if the introgression of dwarfism alleles has changed the contribution of ear photosynthesis to grain filling using near-isogenic lines of a cultivar of bread wheat differing in absence/presence in *Rht* alleles.

In both experiments we covered ears with aluminum foil to reduce photosynthesis, in intact and defoliated plants. The contribution of ear photosynthesis increased in modern cultivars, (particularity in defoliated plants). Ear contribution was negatively correlated with plant height ( $r^2=0.62$  and  $0.71$  in intact and defoliated plants, respectively) and especially with stem dry weight ( $r^2=0.75$  and  $0.80$  in intact and defoliated plants respectively). Dry matter translocation efficiency (the ratio between the translocated dry matter and the stem dry weight at anthesis;  $DMT_e$ ) did not change consistently with year of release of the cultivars. The contribution of preanthesis stem assimilates to grain yield (CPA, i.e. the ratio of stem

mobilized reserves to  $GW_{\text{ear}}$ ) clearly decreased in more modern cultivars. The correlation of ear contribution with awn size was negligible in this retrospective study.

In near-isogenic lines differing in *Rht* alleles, the contribution of the ear was higher when dwarfism alleles were present, mainly in non-defoliated plants. However, there was no consistent relationship between stem weight of the near-isogenic lines and their respective contributions of ear photosynthesis, suggesting that other factors (beyond the *Rht* alleles) are involved in the increase of ear contribution in the retrospective study.

Chapter 4: The objectives of this Chapter were: (i) to study the photosynthetic activity (electron transport rate or ETR, indirectly by chlorophyll fluorescence) during the grain filling, comparing flag leaf, ear body (glumes) and the awns in two cultivars differing in ear contribution to grain filling (ii) to analyze the response of the flag leaf vs. awns to water deficit (relative water content and ETR measurements); (iii) to estimate the influence of presence/absence of awns in the temperature of the body of the ear (iv) to analyze if there are correlation between awn size vs. awn/ear contribution to the grain filling in six modern cultivars of Argentinean wheat differing in this trait and (v) to explore if the awn size and awn contribution to grain filling has changed during the past century (retrospective study).

In this chapter we show that: (1) during late grain filling, ear parts (including the awns, and particularly the body of the ear) can have a higher photosynthetic activity than the flag leaf; (2) the presence of awn could have some favorable effect in ear temperature during the morning, but deleterious (*i.e.* increasing the temperature of the ear) after midday; (3) however, a positive trait of the awn is some 'tolerance' to water deficit, keeping a higher RWC and ETR than the flag leaf under water deficit; (4) we found a positive (moderate under rainfed conditions) relationship between awn length and contribution of the ear to grain filling and (5) in a retrospective analysis of Argentinean bread wheat we did not find a clear tendency during the breeding in awn size and awn contribution to the grain filling.

# Capítulo 1

## Introducción

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 El trigo como cultivo en el mundo

La importancia del trigo como alimento se remonta a tiempos muy antiguos de la historia occidental. Existe un detallado registro de la evolución de sus características hasta llegar al cultivo que actualmente conocemos. Todas las formas cultivadas de trigo tienen su origen en las montañas del suroeste de Turquía (Feuillet et al. 2008). La selección natural no fijó las características que hoy le conocemos al cultivo. Los trigos originarios tenían espigas dehiscentes y granos pequeños que facilitaban la dispersión de semillas. Los primeros agricultores desde el comienzo de su utilización eligiendo por altos rendimientos, facilidad para transportar y almacenar, fueron fijando muchas de las características que hoy encontramos en el trigo (Feuillet et al. 2008).

El trigo pertenece a familia Poaceae (Gramíneas), subfamilia Pooideae, tribu *triticeae* (*hordeae*), género *Triticum* (Cronquist 1988). Las especies del género *Triticum* pueden agruparse en tres grupos diferenciables por su ploidía, (con un número básico de cromosomas ( $n=7, 14$  o  $21$ )). Los trigos comerciales actualmente pertenecen a las especies *Triticum turgidum* var. *durum* (tetraploide  $2n = 28$  genoma AABB es decir, poseen 4 juegos de los 7 cromosomas básicos) trigo duro o candeal y *Triticum aestivum* (hexaploide  $2n = 42$  genoma AABBDD) trigo pan o trigo harinero. La tercer especie *Triticum monococcum* posiblemente la más antigua carece de importancia en la agricultura actual. Los trigos hexaploides posiblemente se formaron por cruzamiento de un tetraploide *T. turgidum dicoccum* (AABB) con una especie diploide *Aegilops tauschii* (genoma DD) que en algún momento de la evolución generaron progenie fértil. Dado que el genoma D de los trigos hexaploides proviene de un trigo adaptado a climas continentales del centro de Asia, los trigos pan pueden ser cultivados en zonas ambientalmente más amplias que los trigos duros (Feuillet et al. 2008; Gill & Friebe 2002 y referencias ahí

citadas). Es importante destacar que la mayor parte del mercado internacional (aproximadamente el 99%) comercializa trigo pan (Javier Ekboir 2001).

Actualmente, el trigo es un cultivo de gran importancia a nivel mundial, como fuente de alimento, ya que el 75 % del trigo es destinado a consumo humano y es la segunda fuente de proteínas y carbohidratos de los países en desarrollo después del arroz. Junto al arroz, el trigo sirve de alimento, al 50% de la población mundial (FAO Madrid, 2006 <http://www.fao.org>). Su distribución es muy amplia y es bastante tolerante a las adversidades climáticas debido en parte a la compleja naturaleza de su genoma que le otorga gran plasticidad. Es el cultivo más sembrado en el mundo con una producción de 600 millones de toneladas en más de 200 millones de hectáreas. En términos absolutos el volumen de trigo comercializado internacionalmente supera el de cualquier otro grano, y en la última década el mercado internacional alcanzó un promedio de 105 millones de toneladas (el 18% de la producción mundial; <http://www.fao.org>).

Durante el proceso de mejoramiento de trigo, la identificación de alelos de enanismo y la generación de variedades semi-enanas representó un salto histórico en los rendimientos del cultivo. La utilización de las variedades semi-enanas, además de evitar las pérdidas por vuelco, permitió incrementar el uso de fertilizantes, por lo que los alelos de enanismo se expandieron en diversos sitios del mundo. Por ejemplo, en Argentina, la mejora del rendimiento aumentó de 12 kg/ha/año (antes de la incorporación de los genes de enanismo, *i.e.*, previo a 1960) a 34 Kg/ha/año (después de su incorporación) (SAGyP). Sin embargo en las últimas décadas se ha observado que esta tasa de mejora de los rendimientos se ha reducido en la mayoría de los países productores de trigo (Miralles & Slafer 2007). Se ha reportado que cuando el rendimiento del trigo está mejorando al 1% al año, la demanda lo está haciendo al 2 % (Skovmand et al. 2001). Por lo tanto, será necesario idear estrategias para que los incrementos en rendimiento acompañen los incrementos en la demanda. Entre ellas, se destacan el mejoramiento genético y la expansión del área sembrada.

## **1.2 El cultivo de trigo en Argentina y el impacto del estrés ambiental sobre la producción de trigo.**

El cultivo de trigo se introduce en el Río de La Plata en 1527, pero su difusión y expansión comienza en 1870. Recién a comienzos de 1900 se inicia el mejoramiento formal. Hasta 1960 los rindes no superaron los 1.000 kg/ha y fue recién a partir de ca. 1970, con la llegada al país de trigos con alelos de enanismo provenientes de germoplasma mexicano, que se producen los mayores incrementos en el rendimiento. Para la economía nacional es un cultivo muy importante, ya que anualmente en la última década se han llegado a exportar 16 millones de toneladas, posicionando al país como el 8vo exportador mundial (\$ 5.500 millones en divisas). Aproximadamente se han llegado a sembrar 6 millones de ha/año, (el 17,5 % del área nacional sembrable), y el rendimiento medio ronda las 2,7 Ton/ha (<http://www.fao.org>). Si bien el volumen de las exportaciones actualmente ha cambiado debido a diferentes estrategias económicas que ha adoptado el Estado Nacional, de alguna manera esos valores describen la importancia del cultivo. La producción actual de trigo en el país promediando las últimas cinco campañas se mantiene (Bolsa de Comercio de Rosario).

Como se menciona en el párrafo anterior, un aumento de los rendimientos podrá ocurrir como resultado, entre otras cosas, del aumento del área sembrada o del mejoramiento genético. El aumento del área sembrada no ha representado un aporte importante al aumento del rendimiento en la última década y esta tendencia parece continuar en el futuro. En la década del 90 en Argentina la producción de trigo se incrementó un 50%, alcanzando valores de 16,5 millones de toneladas, este incremento fue consecuencia del aumento de un 39% en los rendimientos y sólo de un 8% en el área sembrada. Actualmente el área de siembra de trigo está disminuyendo por lo que no se puede esperar mejoras en la producción por este camino. Los aumentos del rendimiento experimentados en la década del 90, se lograron por la incorporación de nuevas variedades y técnicas de manejo (fertilización y siembra directa) (Ekboir & Morris 2001). Aún así, el rendimiento medio nacional es similar al rendimiento promedio mundial pero menor que el de otros países que llegan a 7 Ton/ha

(Francia). Esta diferencia no se vincula solo con las diferencias genéticas y el uso de insumos sino que también se relaciona con los ambientes donde se desarrollan los cultivos. En Argentina el cultivo de trigo se desarrolla en condiciones menos favorables que estos países de altos rendimientos, con menor oferta de radiación y temperaturas medias mayores (Miralles & González 2009). La brecha entre los rendimientos registrados y los potenciales en la pampa argentina es atribuida principalmente a las altas temperaturas y al déficit hídrico que afecta la última etapa del llenado (Calviño & Sadras 2002).

El cultivo de trigo está distribuido en las diferentes subregiones trigueras con distintas condiciones agroclimáticas. Cada subregión presenta diferentes limitantes al rendimiento que hacen que el cultivo deba enfrentar diferentes estreses dependiendo de la subregión y de la variabilidad ambiental interanual. Los episodios de déficit hídrico durante el llenado de los granos son comunes en muchas regiones trigueras de Argentina (v.g., SO de la Pcia. de Buenos Aires, centro de la Pcia. de Córdoba). En el norte de la provincia de Buenos Aires y sur de Santa Fe, regiones que concentran más del 40% de la producción de trigo, la ocurrencia de sequías de diferente magnitud e intensidad constituye la causa principal de variación interanual de los rendimientos (Guía Práctica para el cultivo de trigo-INTA). El déficit hídrico es uno de los estreses que más afecta la producción nacional y que se visibiliza en la generalización de los sistemas de riego registrada durante el último censo nacional (SAGyP).

Además, las perspectivas climáticas para los próximos años en la región triguera Argentina son desfavorables. Se pronostican años “Niña” que van a dejar por debajo de las precipitaciones aceptables a gran parte de las regiones trigueras ([www.bolcereales.com.ar/ver-proclima-76](http://www.bolcereales.com.ar/ver-proclima-76)).

Otra de las limitaciones a la producción de trigo es impuesta por las temperaturas. El territorio argentino cuenta con ciertas peculiaridades producto de su geografía. Al no presentar barreras transversales, los vientos cálidos del norte tienen acceso a todo el territorio por lo que las variaciones térmicas se suceden con frecuencia, afectando el balance hídrico (resultado de la temperatura y la precipitación) (Ruggiero & Conti 1988). La ausencia de

barreras transversales también desfavorece la producción al dejar pasar vientos fríos del suroeste durante el momento de floración del cultivo. Cerca del 20% de las zonas trigueras tienen riesgo de heladas en la época reproductiva (Abate INTA-UBA en Revista El Federal 2013). Este hecho abre un juego de costo beneficio ya que al correr el cultivo hacia los meses más cálidos, la producción puede verse perjudicada por las altas temperaturas durante el llenado de granos.

### 1.3 Desarrollo fenológico de la planta de trigo

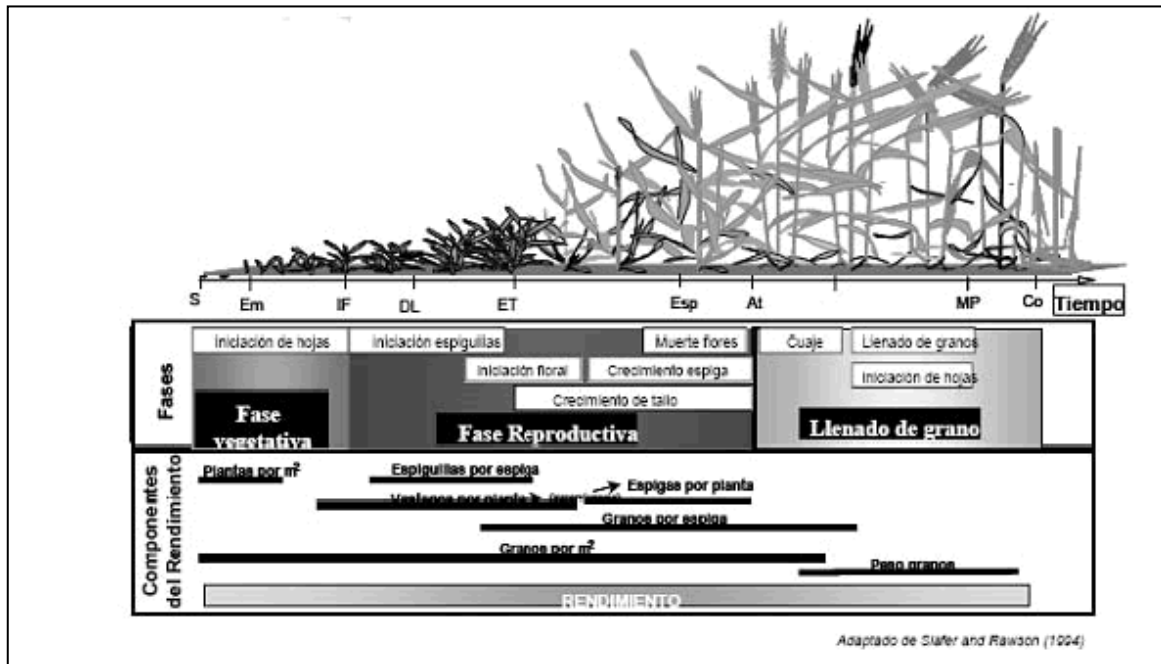
Los efectos del estrés ambiental sobre el rendimiento de trigo dependen del estadio fenológico considerado. En este sentido, algunas etapas son más importantes que otras en la determinación del rendimiento, y es importante su conocimiento para poder predecir efectos del estrés ambiental (v.g. 'ventanas de sensibilidad') sobre la producción. Como se puede ver en la Fig. 1. 1. todas las etapas del desarrollo están involucradas en la determinación del rendimiento (a través de sus diferentes componentes), desde la germinación hasta la madurez de los granos, aunque en diferente grado cada una. Las etapas del desarrollo pueden ser estudiadas desde varios puntos de vista, ya sea atendiendo a cambios en la morfología externa (como aparición de hojas, elongación del tallo) o analizando los cambios apicales (Slafer et al. 2010). Poniendo el foco de atención en los cambios apicales, el desarrollo de la planta de trigo se divide en tres fases: (1) vegetativa, (2) reproductiva y (3) de maduración (Slafer et al. 2010). La duración de cada fase es determinada por la interacción genotipo-ambiente (temperatura, fotoperiodo y vernalización) (Miralles 2004).

(1) Fase vegetativa: va desde la imbibición de la semilla hasta el estadio de doble lomo del ápice. Se caracteriza por la formación de los primordios foliares (futuras hojas) y es donde se determina el área foliar potencial de la planta. Durante esta fase, el ápice tiene una yema simple que da lugar a los primordios foliares. En la siguiente fase del desarrollo el ápice pasa a tener doble lomo

meristemático, cuya parte inferior representa el vestigio del primordio foliar y la parte superior desarrolla los primordios de las espiguillas.

(2) Fase reproductiva: comienza con la formación en el ápice de los primeros primordios de las espiguillas y finaliza en antesis, con la polinización de las flores. Cuando se forma la espiguilla terminal es el momento en que se alcanza el máximo número de espiguillas. La diferenciación de los órganos florales comienza en las flores basales de las espiguillas centrales y continúa hacia el ápice. Durante esta etapa se produce el macollaje (formación de tallos secundarios a partir de yemas secundarias), se establece en número de espigas por m<sup>2</sup> y el número de granos potencial por espiga.

(3) Fase de maduración del grano: comienza luego de la fecundación, con el crecimiento del grano. Esta fase se puede dividir en tres etapas. La primera es la de multiplicación celular, la segunda la de acumulación de carbohidratos y proteínas y la tercera es la de desecación. En esta fase se determina el último componente del rendimiento, es decir el peso de grano. Este componente depende de la tasa de llenado (mg de materia seca acumulados por día) y de la duración de la etapa de llenado (días desde antesis a madurez).



**Fig. 1. 1 Diagrama esquemático del crecimiento y desarrollo de un cultivo de trigo.** Se muestran los estados que delimitan las fases del desarrollo y los eventos que dan lugar a la formación de los componentes del rendimiento. Adaptado de Slafer y Rawson (1994).

Para la descripción precisa de los diferentes estados morfológicos externos que atraviesa el cultivo es común el uso de escalas. La escala de Zadoks (Zadoks et al. 1974) es la más ampliamente aceptada. Esta escala utiliza dos dígitos para definir los estados, el primer dígito divide el ciclo de cultivo en diez etapas principales, y el segundo divide a su vez a estas etapas en diez etapas secundarias (ver tabla Tabla 1. 1). En los experimento de esta tesis utilizaremos la escala de Zadoks en toda ocasión que se requiera identificar un estado fenológico.

**Tabla 1. 1. Principales estados descriptos en la escala de Zadoks et al. (1974)**

Primer dígito del código	Descripción
0	Germinación
1	Crecimiento de plántula
2	Macollaje
3	Elongación del tallo
4	Estado de bota
5	Emergencia de inflorescencia
6	Antesis
7	Estado lechoso del grano
8	Estado pastoso del grano
9	Madurez

#### 1.4 Los componentes del rendimiento

La generación del rendimiento puede ser estudiada desde dos perspectivas complementarias: a través de sus componentes fisiológicos o desde sus componentes numéricos. Estos dos enfoques, han sido utilizados para estudiar los cambios en el rendimiento a lo largo del mejoramiento genético y se espera, que faciliten la identificación de características que permitan continuar con la mejora del rendimiento. Los llamados componentes numéricos del rendimiento son: el número de granos y el peso individual de granos.

$$R = NG \times PGi$$

Entre los componentes numéricos, el peso de grano es un parámetro que (indirectamente) va a ser usado en la mayoría de los experimentos de esta Tesis. Los componentes del rendimiento se generan de forma secuencial

durante el desarrollo de la planta (ver Fig. 1. 1). Esto otorga al cultivo la capacidad de compensar efectos adversos que ocurran en los primeros estadios del desarrollo. Como resultante, el rendimiento presenta alta estabilidad bajo una amplia variedad de condiciones ambientales. Las estrategias para mejorar el rendimiento apuntan a un aumento en alguno de estos componentes sin la disminución de los otros.

#### *1.4.1. La relación fuente- destino y el rendimiento*

Uno de los aspectos relevantes que constituyen las bases fisiológicas de la producción de materia seca durante todo el desarrollo de cultivos de plantas, es la llamada relación 'fuente-destino'. Se denomina 'fuente' a la capacidad fotosintética potencial de la planta y 'destino' a la capacidad potencial para utilizar esos productos fotosintéticos. Se incluye dentro de los destinos a los órganos que presentan actividad meristemática, de diferenciación o de almacenamiento (hojas en expansión, espigas, granos, tallos en crecimiento), y por lo tanto importan asimilados desde las fuentes (órganos fotosintéticos y/o de almacenamiento) (Satorre 2010).

El concepto de fuerza de los destinos (el cual está relacionado con la habilidad de los destinos para influir sobre la importación de los asimilados), es definido como la capacidad potencial para atraer asimilados, es decir representa la tasa máxima a la cual puede utilizar los sustratos bajo condiciones no limitantes. La producción de biomasa siguiendo esta relación, puede estar limitada por cualquiera de sus partes, es decir por la fuente o por el destino. Si la capacidad de los destino es pequeña, la producción de grano se verá limitada y si la capacidad de los destinos es alta pero la capacidad de la fuente no lo es, la producción de biomasa (como grano) tampoco podrá ser elevada (Alam et al. 2008). El resultado final del flujo de asimilados desde los órganos fuente a los órganos destino, se denomina partición de biomasa. La partición de los asimilados entre los distintos destinos de la planta depende de la fuerza de estos destinos.

- *Determinación del número de granos*

El número de granos por unidad de área se comienza establecer desde las primeras etapas del desarrollo, desde que se determina el número de plantas establecidas. El número de granos por unidad de área, surge de la compleja combinación de diferentes componentes: número de plantas establecidas por m<sup>2</sup>, macollos por planta, espigas por planta, espiguillas por espiga y granos por espiguilla. La fijación de estos componentes tiende a ser secuencial y a darse en determinados estadios del ciclo ontogenético. Componentes más tardíos en el ciclo pueden compensar a los anteriores. La magnitud de cada componente es establecida por la relación fuente-destino del momento en el que se fija (Satorre 2010). Por ejemplo, durante el macollaje se pueden remediar pérdidas en el número de plantas establecidas, ya que si bien el n° de macollos varía con el genotipo y el ambiente, está fuertemente relacionado con la densidad.

Fischer (1985) identificó una fase crítica en la determinación del número de granos entre 20 y 30 días antes de antesis (desde la iniciación de la espiguilla terminal a antesis), que es donde se produce una fuerte competencia entre tallos y espigas. Como resultado de esta competencia, los macollos más pequeños mueren y los primordios florales dependen de la habilidad de la espiga para competir. Nuevas investigaciones refuerzan la importancia del peso de las espigas al momento de antesis en la determinación del mayor número de granos, y atribuyen este mayor peso de las espigas a una extensión en la duración en la etapa bota a antesis (Slafer 1996; Miralles & Slafer 2007; Isidro et al. 2011). Algunos trabajos hablan de variabilidad genética en el peso de la espiga y en el número de granos y cada vez es más estudiado el coeficiente de fertilidad de espiga (mg de espiga 'no grano', por grano) como determinante del número de granos (González et al. 2003; González et al. 2011). En un trabajo de García et al. (2011) sugieren, luego de encontrar variabilidad en número de granos para duraciones de fase de elongación de tallo similares, que en la determinación del número de grano están interviniendo otras características ecofisiológicas como tasa de crecimiento de la espiga, partición a espiga o el coeficiente de fertilidad de espiga.

- *Determinación del peso de granos*

Tradicionalmente se ha estudiado el establecimiento del peso de granos como determinado entre antesis y madurez, sin embargo se ha encontrado que la etapa previa a antesis (10 días) puede ser muy importante también (Calderini et al. 1999). La relación encontrada entre el peso de los granos y las condiciones de crecimiento previas a antesis estaría relacionada con el desarrollo de los carpelos florales (futuro pericarpio del grano). Se ha encontrado relación entre el peso de granos y el peso de los carpelos al momento de antesis. Siendo así, la determinación del número de granos y la determinación del peso de los mismos se superpondría unos días en el tiempo. Además esta superposición en el tiempo generaría un “trade-off” por la disponibilidad de asimilados entre el número de granos por espiga y el peso potencial de los mismos (Gambín & Borrás 2010).

Luego de “antesis” comienza la etapa de llenado de los granos, en donde se determina el peso individual de los mismos. A diferencia del número de granos, el peso de los granos es definido en una etapa más acotada en el tiempo, que comprende desde floración (como fue mencionado arriba) hasta madurez fisiológica (ver Fig. 1. 1). En condiciones normales, durante esta etapa de llenado, los granos reciben asimilados de las partes superiores de la planta. Tradicionalmente se consideró a la hoja bandera como al principal contribuyente de asimilados para el llenado de los granos (Evans et al., 1975), dada su posición superior en la planta, (recibiendo mayor radiación) y a que se encuentra ubicada más cerca de los granos (*i.e.* los destinos) que el resto de las hojas. Actualmente, se reconocen otros contribuyentes: la retranslocación de asimilados no estructurales almacenados en el tallo en período en pre-antesis (Gebbing & Schnyder 1999; Álvaro et al. 2008; Foulkes et al. 2007; Blum, 1998; Ehdaie et al., 2008) y a fotosíntesis de la espiga (Passioura, 1994). La proporción de peso de grano que corresponde a cada aporte varía con los cultivares y con el ambiente sin embargo la información que se encuentra es fragmentaria (Tambussi et al. 2007).

Durante esta etapa lo que determina el peso final de los granos es (además del peso potencial de los granos) la relación fuente-destino, que

dependen tanto del genotipo como de las condiciones ambientales en donde transcurrió el cultivo.

Existe un consenso que durante la etapa de llenado de granos el rendimiento en trigo estaría limitado fundamentalmente por destinos (Slafer & Savin, 1994; Borrás et al. 2004), aunque existen también reportes de limitación por fuente (Alam et al. 2008; Bijanzadeh & Emam 2010; Fischer & HilleRisLambers 1978; Herzog 1982; Mohammadi 2012; Rharrabti et al. 2010; Simmons, Crookston, & Kurle 1982; Wang et al. 1998; Herzog 1982; Balkan et al. 2011; Serrago et al. 2011; Zhang et al. 2010) .

#### *1.4.2. Efectos de la mejora sobre los componentes del rendimiento y posible limitación por fuente en cultivares modernos*

El análisis de los componentes numéricos del rendimiento a lo largo de la mejora genética muestra que el aumento del rendimiento correlaciona fuertemente con el aumento del número de granos por unidad de área. Existen muchos trabajos en donde se reporta al número de granos como el principal componente del rendimiento (Savin & Slafer, 1991; Fischer, 1993; Sayre et al., 1997; Gonzalez et al., 2003a). Dentro de la espiga, el mayor número de granos observado durante la mejora ha sido producto tanto del incrementos en el número de espiguillas por espiga, como de aumentos en el número de granos por espiguilla (Fischer et al., 2007; Álvaro et al., 2008; Royo et al. 2007; Isidro et al. 2011).

La falta de incremento en el peso de granos a lo largo de la mejora, aún no está resuelta y puede deberse a varias razones: (1) a la insensibilidad a las giberelinas inducida por los alelos de enanismo (Miralles et al. 1998), (2) a la competencia por asimilados post-antesis (Flintham et al. 2000), (3) o a la aparición de granos en posiciones con menor peso potencial (posiciones distales de las espiguillas) (Slafer et al. 1996) (Miralles & Slafer 1996).

El incremento en el número de granos de los cultivares modernos, parecería ser el resultado de la relocalización de asimilados de la parte vegetativa a la reproductiva (Miralles & Slafer 1995). Sinclair & Jamieson

(2006) postulan que la correlación observada entre el número de granos y el rendimiento se trata de una correlación empírica, es decir que las dos variables serían controladas por los mismos factores, variables no independientes entre sí. En este trabajo se muestra que cuando se disminuye la fuente de asimilados post-antesis (por desfoliado o sombreado), un mayor número de granos fijado no se corresponde con mayores rendimientos y se observa que las reducciones de fuente generan una disminución del peso de los mismos. Esto significa que el número de granos es un estimador 'optimista' en antesis dado que el peso de granos puede disminuir cuando la disponibilidad de asimilados en post-antesis se reduce (Sinclair & Jamieson 2006). Los autores sostienen que un aumento en el número de granos, sin un incremento paralelo de los asimilados disponibles, no producirá mejoras en los rendimientos. Según Fischer et al. (2008), la mejora en los últimos 30 años se logró con un incremento del número de granos por lo que, al menos para condiciones de rendimiento potencial, los argumentos de Sinclair & Jamieson 2006 no son válidos.

*¿Limitación por fuente o por destino en germoplasma moderno?*

Por otro lado, analizando el proceso de mejora genética del rendimiento, se sabe que la introducción de los alelos de enanismo, ha reducido la biomasa de tallos, al momento de antesis (principalmente biomasa de tallos; Álvaro et al. 2008). Coincidente con esto, investigaciones recientes evidencian que alguna limitación por fuente podría estar emergiendo en cultivares modernos (Álvaro et al. 2008, en trigo duro), que tienen más granos por unidad de área y menos biomasa vegetativa debido a la presencia de genes de enanismo. En este trabajo, utilizan veinte variedades de trigo liberadas en diferentes periodos y les modifican la relación fuente-destino. En el tratamiento donde les eliminan espiguillas, observan un incremento del 15% del peso de grano en las variedades modernas y una mayor sensibilidad a la modificación de la relación fuente-destino que las variedades antiguas. Por lo tanto, si bien las variedades antiguas de trigo eran poco afectadas por tratamientos de defoliación post antesis (Kruk et al. 1997), cultivares más modernos parecen responder en mayor medida a limitaciones por fuente (Álvaro et al. 2008).

También existen otros trabajos donde se han registrado incrementos en el peso de los granos luego de modificaciones en la relación fuente – destino, por desespiguillado (Alam et al. 2008; Bijanzadeh & Emam 2010; Fischer & HilleRisLambers 1978; Herzog 1982; Mohammadi 2012; Rharrabti et al. 2010; Simmons et al. 1982; Wang et al. 1998; Herzog 1982). Por ejemplo en el trabajo de Wang et al. (1998), donde analizan el efecto de manipulaciones de fuente y los destinos en antesis (eliminación de hojas y reducción de espiguillas) sobre los componentes del rendimiento, se observa un incremento significativo del peso de granos en el tratamiento de desespiguillado. Los autores concluyen que para alcanzar mayores rendimientos, a través de un mayor número de granos, se requerirá mejorar la disponibilidad de asimilados durante la determinación del número de granos. Otro ejemplo donde realizan reducción del número de granos por desespiguillado en antesis es en el trabajo de Bijanzadeh & Emam (2010). En éste, los autores evalúan el efecto de la modificación de fuente sobre los componentes del rendimiento en cinco cultivares y observan que sólo en uno no registran incrementos significativos del peso individual de granos por el tratamiento de desespiguillado. Las diferencias encontradas respecto a la limitante del rendimiento en los diferentes trabajos son atribuidas a diferencias en el background genético de los cultivares.

Además también existen indicios indirectos como el trabajo de Mohammadi del 2012, donde sugieren que posiblemente es por una limitación en la fuente de asimilados durante el llenado de granos que algunos cultivares son menos tolerantes al estrés térmico.

#### *1.4.3. Estréses abióticos y bióticos*

Las posibles limitantes por fuente en cultivares modernos podrían estar exacerbadas frente al estrés ambiental. En situaciones ambientales óptimas se ha propuesto que en las variedades modernas de altos rendimientos, la limitación durante el llenado de granos está dada fundamentalmente por la fuerza de los ‘destinos’ (Slafer et al. 1999). Existen numerosos trabajos que establecen que la limitación por fuente no sería significativa en el trigo, porque tratamientos de disminución de fuente disminuyen el peso del grano en bajo

porcentaje (Borrás et al. 2004 y referencias citas allí). Además estos estudios se respaldan en que a lo largo de la mejora el incremento del rendimiento se correlaciona mejor con el número de granos que con el peso de los mismos. Sin embargo, en estos mismos estudios, se puede ver a lo largo de la mejora genética, variaciones en el peso de granos para igual número de granos, que podrían ser indicio de limitación en la fuente de asimilados (Lucas Borrás et al. 2004).

Las condiciones ambientales donde se lleva a cabo el cultivo de trigo suelen alejarse bastante del óptimo, ya que estreses abióticos (*v.g.* sequía) o bióticos (*v.g.* patógenos que disminuyen el área fotosintética) inciden fuertemente en el rendimiento final. Como se mencionó anteriormente, en Argentina, el estrés ambiental adquiere especial importancia sobre la producción de trigo, además considerando que las regiones trigueras están siendo desplazadas a regiones de menores rendimientos. La identificación de mecanismos que permitan mitigar la reducción de la fotosíntesis en condiciones de déficit de fuente permitirá mejorar el rendimiento en muchas situaciones ambientales. El llenado de los granos se produce en un momento del año donde las temperaturas y la evapotranspiración comienzan a aumentar, reduciendo el agua disponible en el suelo. La actividad fotosintética disminuye marcadamente en respuesta al estrés hídrico, (Cornic & Masacci, 1996; Muller & Whitsitt 1996), la cual declina en respuesta al cierre estomático y si el período de estrés se prolonga, se acelera el proceso normal de senescencia foliar (Aparicio-Tejo & Boyer, 1983). Asimismo, también pueden aparecer limitaciones no-estomáticas (*i.e.* metabólicas) a la fotosíntesis si el estrés es severo o se prolonga en el tiempo (Lawlor 2002).

El déficit hídrico disminuye la fuente de asimilados no solo reduciendo la fotosíntesis de las partes verdes sino que repercute en las reservas del tallo acumuladas en pre-antesis. Se ha demostrado que cuando la asimilación de carbono se reduce debido al estrés hídrico durante el crecimiento de los tallos, su elongación también se reduce disminuyendo la cantidad de asimilados almacenables (Blum 1998; Davidson & Chevalier, 1992).

Además al considerar el estrés biótico, se encuentra que la mayoría de las enfermedades foliares del trigo se intensifican en el periodo post-antesis, alcanzando las hojas superiores del canopeo. Generalmente, este período es el momento donde las condiciones de T° y humedad propician la dispersión de la enfermedad, afectando las hojas que más aportan al rendimiento, lo que se traduce al igual que el estrés hídrico en una reducción de la radiación interceptada (Blum 1998;. Serrago et al. 2011).

### **1.5 La fotosíntesis de la espiga como fuente de asimilados para el llenado**

Se sabe que la fotosíntesis de la espiga es importante en condiciones de sequía post-antesis (Abbad et al. 2004; Tambussi et al. 2007; Blum 1985; Araus et al. 1993; Bort et al., 1994), aunque tanto su contribución al llenado de los granos como la base mecánica de esta aparente tolerancia a la sequía de la espiga aún son inciertas.

Las espigas, además de por las estructuras propiamente reproductivas, están compuestas por varios órganos fotosintéticos: (i) las brácteas (glumas, lemmas, y en menor medida, las paleas), (ii) las aristas (que son en realidad parte de las lemmas) y (iii) el pericarpio de los granos. Estos órganos fotosintéticos pueden efectuar una importante contribución al rendimiento en grano (Blum 1985; Araus et al. 1993; Bort et al. 1994), aunque la contribución relativa de la fotosíntesis de cada uno de ellos se desconoce hasta el momento. Extrapolando lo que ocurre con otras fuentes de asimilados durante el llenado de granos, es posible que la importancia relativa de cada una de estas 'fuentes' varíe con el cultivar y el ambiente (Tambussi et al. 2007).

Las espigas son una fuente particular de asimilados para los granos, y tienen características que la diferencian del resto de las fuentes. Estas son: 1) capacidad de refijación del CO<sub>2</sub> respirado por los granos, 2) alta eficiencia en el uso del agua, 3) capacidad de ajuste osmótico, 4) rasgos xeromórficos, y 5) retardo de la senescencia respecto a la hoja bandera (ver citas bibliográficas más adelante).

La presencia de paleas, lemmas y glumas (rodeando los granos) y el pericarpio de los granos parecen ser importantes tejidos fotosintéticos para fijar el CO<sub>2</sub> respirado por los granos (Kriedemann 1966; Bort et al., 1996; Gebbing et al., 2001). La respiración nocturna en espigas de trigo durante el llenado de granos ha sido medida alrededor del 44% de la fotosíntesis bruta (Knoppik et al., 1986). Si consideramos la fotosíntesis total de la espiga, la refijación parece ser un proceso cuantitativamente importante (Gebbing & Schnyder 2001). Aunque algún trabajo muestra que la capacidad de refijación en trigo duro parece estar genéticamente determinada (Bort et al. 1996), el rango de variabilidad genética no ha sido estudiado aún. Se ha reportado una alta eficiencia instantánea del uso del agua (*i.e.*, el cociente fotosíntesis/transpiración) en la espiga (Blum 1985; Araus et al. 1993), que podría estar relacionada con la capacidad de reciclar el CO<sub>2</sub> respirado (Bort et al. 1996) y con ciertas características morfo-fisiológicas de la espiga, tales como la presencia de aristas, rasgos xeromórficos y capacidad de ajuste osmótico, características que también podrían aportar una mayor tolerancia a la sequía (Morgan 1980).

Se ha encontrado que la espiga senesce más tarde que el resto de órganos verdes (Martínez et al. 2003), mostrando un retraso (respecto de la hoja bandera) en la degradación de componentes fotosintéticos (*v.g.* Rubisco, complejos proteicos de la antena del fotosistema II, clorofila) (Martínez et al. 2003). Mediciones de la tasa de asimilación de carbono por medio de técnicas de intercambio de gases (IRGA) y de la actividad del fotosistema II (fluorescencia modulada de la clorofila) indican que este carácter '*stay green*' de la espiga no es meramente 'cosmético' sino funcional, es decir, la persistencia de componentes del aparato fotosintético se ve correspondido con un mantenimiento de la actividad fotosintética (*v.g.* Abad et al. 2004; Tambussi et al 2005). Este es otro atributo que posiciona a la espiga en una condición de ventaja como fuente de asimilados, frente al resto de los tejidos verdes de la planta durante la etapa final del ciclo del cultivo.

Además de las ya mencionadas, la espiga presenta otras características, que también pueden ser importantes en condiciones de déficit

de fuente, las cuales se enumeran a continuación: (i) la cercanía a los destinos, por lo que el camino que los asimilados deben recorrer es mucho menor que desde otras fuentes (v.g. hoja bandera); (ii) por la posición superior en el cultivo como órgano fotosintético dentro de la planta, tiene una posición de privilegio frente a la radiación y al CO<sub>2</sub> (Evans et al. 1972); (iii) la presencia de ceras epicuticulares aumenta la reflectancia de la espiga, lo que evita la absorción excesiva de energía (en condiciones de estrés un exceso de energía puede llevar a la fotohinibición de la fotosíntesis, fotooxidación y en general senescencia prematura Romagosa y Araus (1992)); (iv) Dada la posición apical de la espiga en el cultivo, es el órgano más expuesto a la radiación solar y posiblemente el que más se calienta, por lo que la fijación de CO<sub>2</sub> respirado por los granos debe ser una ventaja para disminuir las pérdidas por fotorrespiración. Es decir, el reciclado de CO<sub>2</sub> puede ser una ventaja en ambientes de altas temperaturas (Araus et al. 1993). Otro aspecto interesante a mencionar es que las espigas forma parte de los órganos que continúan aportando al llenado de granos cuando los cultivo son afectados por enfermedades foliares, como se mencionó unos párrafos arriba. Incluso, en condiciones de disminución de asimilados, su aporte podría incrementarse, como el de otros tejidos remanentes de la planta (Serrago et al. 2011; Carretero et al. 2011).

Las aristas son el órganos de la espiga que más ha sido estudiado (Blum 1985; Motzo & Giunta 2002; Martin et al. 2003; Weyhrich et al. 1994, Tambussi et al. 2007; Bort et al. 1994; Foulkes et al. 2007; Mc Kenzie, 1972) y sin embargo su efecto sobre el aporte de la fotosíntesis de la espiga es controversial. Más adelante en esta Tesis se profundizan algunos aspectos de las mismas.

### ***Objetivos e hipótesis de trabajo***

El objetivo general del proyecto en el que se enmarca esta Tesis es determinar el impacto sobre el rendimiento de caracteres que pueden contribuir a mantener la disponibilidad de fotoasimilados en cultivos de trigo sometidos a limitación por 'fuente (v.g. sequía, defoliación) durante el período reproductivo.

Particularmente en esta Tesis, se trabajó en determinar el impacto del aporte de fotoasimilados sobre el peso total de granos en cultivos trigo pan, sometidos mediante diversos tratamientos de disminución de fuente (v.g. desfoliado, déficit hídrico sombreado) durante el período reproductivo.

Profundizar en el conocimiento de las bases fisiológicas de la contribución de la espiga servirá para poder utilizarlas, en la adecuación de cultivares a un ambiente dirigiendo los procesos de mejora y contribuir al establecimiento de un incremento en la producción, principalmente en las regiones con condiciones más desfavorables.

### **Objetivos específicos**

1. Determinar mediante diferentes aproximaciones experimentales el aporte que realizan los tejidos verdes de la espiga al llenado de los granos en *Triticum aestivum* L., sometido mediante diversos tratamientos a disminución de fuente durante el período post-antesis.
2. Analizar si la contribución de la fotosíntesis de la espiga de trigo pan al llenado de granos ha sufrido modificaciones concomitante a la reducción de biomasa vegetativa dada por la presencia de alelos de enanismo.
3. Analizar algunos aspectos fisiológicos de las aristas y su contribución fotosintética al llenado de granos

### **Hipótesis**

La hipótesis general de este proyecto es que el mantenimiento de la producción de fotoasimilados, a través de una mayor fotosíntesis de la espiga en trigo, resultará en una mayor tolerancia del rendimiento a situaciones de déficit en la disponibilidad de asimilados post-antesis. Las hipótesis específicas del proyecto son:

1. La fotosíntesis de la espiga de trigo hace un aporte importante al llenado de granos, y esta contribución puede verse aumentada en condiciones de disminución de fuente (v.g. estrés hídrico, desfoliado).
2. Durante el proceso de mejora genética del trigo se incrementó la contribución de fotosíntesis de la espiga, que acompañó (compensando) la disminución de fuente debida a la reducción de materia seca retranslocable en los tallos.
3. Existe variabilidad en las características de las aristas de los cultivares de trigo pan argentinos y que ciertas características (v.g. tamaño de aristas) se correlacionan con la contribución de la espiga al llenado de los granos.

## **Bibliografía**

- Abbad, H. et al., 2004. Comparison of flag leaf and ear photosynthesis with biomass and grain yield of durum wheat under various water conditions and genotypes. , 24, pp.19–28.
- Alam, M.S. et al., 2008. Effect of Source and / or Sink Restriction on the Grain Yield in Wheat. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(3), pp.258–261.
- Araus, J. L. et al., 1993. Ear photosynthesis , carbon isotope discrimination and the contribution of respiratory CO<sub>2</sub> to differences in grain mass in durum wheat. *Plant, Cell and Environme*, 16, pp.383–392.
- Araus, J. L. et al., 2002. Plant Breeding and Drought in C 3 Cereals : What Should We Breed For ? *Annals of botany*, 89, pp.925–940.
- Araus, José L., Reynolds, Matthew P. & Acevedo, E., 1993. Leaf posture, grain yield, growth, leaf structure, and carbon isotope discrimination in wheat.pdf. , pp.1273–1279.
- Balkan, A., Gentan, T. & Bilgin, O., 2011. EFFECT OF REMOVAL OF SOME PHOTOSYNTHETIC ORGANS ON. *Bangladesh J. Agril Res.*, 36(March), pp.1–12.
- Bijanazadeh, E. & Emam, Y., 2010. source sink yield and photosynthesis in wheat.pdf. *Journal of Applied Sciences*, 10(7), pp.564–569.
- Blum, A., 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica*, 100(1998), pp.77–83.
- Blum, A., 1985. The Effect of Heat Stress on Wheat Leaf and Ear Photosynthesis 1. *Journal of Experimental Botany*.
- Borrás, Lucas, Slafer, G. a & Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research*, 86(2-3), pp.131–146. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429003001849> [Accessed August 30, 2012].
- Bort, J. et al., 1994. Role of awns in ear water-use efficiency and grain weight in barley. *Plant physiology*.
- Calviño, P. & Sadras, V., 2002. On-farm assessment of constraints to wheat yield in the south-eastern Pampas. *Field Crops Research*, 74(1), pp.1–11.
- Carretero, R., Bancal, M.O. & Miralles, Daniel Julio, 2011. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on photosynthesis and related processes of leaves in wheat crops grown at two contrasting sites and with different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy*, 35(4), pp.237–246. Available at:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1161030111000736> [Accessed March 18, 2013].
- Ehdaie, B. et al., 2006. Genotypic Variation for Stem Reserves and Mobilization in Wheat: II. Postanthesis Changes in internode Water-soluble Carbohydrates. *Crop Science*, 46(5), p.2093. Available at: <https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/46/5/2093> [Accessed October 9, 2012].
- Evans, T.L. et al., 1972. Effect of awns and drought on the supply of photosynthate and its distribution within wheat ears. , pp.67–76.
- Feuillet, C., Landgridge, P. & Waugh, R., 2008. Cereal breeding takes a walk on the wild. *Epub*, 24(1), p.18054117.
- Fischer, R.A. & HilleRisLambers, D., 1978. Fischer 1978 Effect of environment and cultivar on source limitation to grain weight in wheat .pdf. , pp.443–458.
- Flintham, J.E. et al., 2000. Optimizing wheat grain yield: effects of Rht (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE*, 128(01), pp.11–25.
- Foulkes, M.J. et al., 2007. Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat. *Field Crops Research*, 103(1), pp.11–24. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429007000718> [Accessed August 2, 2012].
- Gambín, B.L. & Borrás, L., 2010. Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. *Annals of Applied Biology*, 156(1), pp.91–102. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.2009.00367.x> [Accessed March 10, 2013].
- García, G.A. et al., 2011. Variability of duration of pre-anthesis phases as a strategy for increasing wheat grain yield. *Field Crops Research*, 124, pp.408–416.
- Gebbing, T. & Schnyder, H., 1999. Pre-Anthesis Reserve Utilization for Protein and Carbohydrate Synthesis in Grains of Wheat. *Plant physiology*, 121(3), pp.871–878. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=59449&tool=pmc&entrez&rendertype=abstract>.
- Gill, B.S. & Friebe, B., 2002. Cytogenetics , phylogeny and evolution of cultivated wheats. *Plant production and protection series*, (30), pp.71–88.
- González, F.G., Slafer, G. a. & Miralles, D.J., 2003. Grain and protein number in response to photoperiod during stem elongation in fully and slightly vernalized wheats. *Field Crops Research*, 81, pp.17–27.

- González, F.G., Terrile, I. I. & Falcón, M.O., 2011. Spike Fertility and Duration of Stem Elongation as Promising Traits to Improve Potential Grain Number ( and Yield ): Variation in Modern Argentinean Wheats. *Crop Science*, 51(august).
- Herzog, H., 1982. Relation of source and sink during grain filling period in wheat and some aspects of its regulation. *Physiologia Plantarum*, 56, pp.155–160.
- Isidro, J. et al., 2011. Changes in duration of developmental phases of durum wheat caused by breeding in Spain and Italy during the 20th century and its impact on yield. *Annals of botany*, 107(8), pp.1355–66. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3101139&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 24, 2012].
- Martin, J.N. et al., 2003. Contributions of Leaf Rust Resistance and Awns to Agronomic and Grain Quality Performance in Winter Wheat. *Crop Science*, 43(5), p.1712. Available at: <https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/43/5/1712>.
- Miralles, D J et al., 1998. Dwarfing genes and cell dimensions in different organs of wheat. *Journal of experimental botany*, 49(324), pp.1119–1127.
- Miralles, D. J. & Slafer, G. a., 2007. Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced? *The Journal of Agricultural Science*, 145(02), p.139. Available at: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0021859607006752](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0021859607006752) [Accessed September 13, 2012].
- Miralles, D. J. & Slafer, G.A., 1995. Individual grain weight responses to genetic reduction in culm length in wheat as affected by source-sink manipulations. *Field Crops Research*, 43(2-3), pp.55–66. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/037842909500041N>.
- Miralles, D.J. & Slafer, G.A., 1996. Grain Weight Reductions in Wheat Associated with Semidwarfism : an Analysis of Grain Weight at Different Positions Within the Spike of Near-isogenic Lines. *J. Agronomy & Crop Science*, 16(177), pp.9–16.
- Miralles, Daniel J, 2004. Consideraciones sobre ecofisiología y manejo de Trigo. *Información técnica de trigo. Campaña 2004. Publicación Miscelánea. INTA*, 101(1), pp.1–7.
- Miralles, Daniel J. & González, F.G., 2009. EL TRIGO EN ARGENTINA: Perspectivas ecofisiológicas del pasado, presente y futuro para aumentar el rendimiento. *Congreso AAPRESID 2009*.
- Mohammadi, M., 2012. Effects of kernel weight and source-limitation on wheat grain yield under heat stress. *African Journal of Biotechnology*, 11(12), pp.2931–2937. Available at:

- <http://www.academicjournals.org/ajb/abstracts/abs2012/9Feb/Mohammadi.htm> [Accessed February 27, 2013].
- Mohan, M.K., De, A.M.D. & Castro Marina, 2001. *Estrategias y metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo : un enfoque multidisciplinario.*,
- Morgan, . J.M., 1980. Osmotic Adjustment in the Spikelets and Leaves of Wheat. *Journal of experimental botany*, 31(2), pp.655–665.
- Motzo, R. & Giunta, F., 2002. Awnedness affects grain yield and kernel weight in near-isogenic lines of durum wheat. , 53(12), p.1293.
- Reynolds, M.P., Rajaram, S. & McNab, A., 1996. *Increasing Yield Potential in Wheat : Breaking the Barriers*,
- Rharrabti, Y. et al., 2010. Grain weight of durum wheat cultivars released in Italy and Spain during the 20<sup>th</sup> century as affected by source-sink manipulations. *Cereal Research Communications*, 38(1), pp.134–145. Available at: <http://www.akademai.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1556/CRC.38.2010.1.14> [Accessed March 18, 2013].
- Royo, Conxita et al., 2007. Genetic changes in durum wheat yield components and associated traits in Italian and Spanish varieties during the 20th century. *Euphytica*, 155(1-2), pp.259–270. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10681-006-9327-9> [Accessed September 13, 2012].
- Serrago, R. a. et al., 2011. Grain weight response to foliar diseases control in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 120(3), pp.352–359. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037842901000287X> [Accessed September 13, 2012].
- Simmons, S., Crookston, K. & Kurle, J., 1982. Growth of spring wheat kernels as influenced by reduced kernel number per spike and defoliation.pdf. *Crop and Pasture Science*, 22, pp.983–988.
- Sinclair, T.R. & Jamieson, P.D., 2006. Grain number, wheat yield, and bottling beer: An analysis. *Field Crops Research*, 98(1), pp.60–67. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429005002807> [Accessed September 13, 2012].
- Slafer, G.A., 1996. Differences in phasic development rate amongst wheat cultivars independent of responses to photoperiod and vernalization . A viewpoint of the intrinsic earliness hypothesis. *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE*, 126, pp.403–419.
- Tambussi, E.A., Bort, J. & Araus, J.L., 2007. Water use efficiency in C 3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Annals*

of *Applied Biology*, 150(3), pp.307–321. Available at:  
<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.2007.00143.x> [Accessed August 17, 2012].

- Wang, Z. et al., 1998. Source-sink manipulation effects on postanthesis photosynthesis and grain setting on spike in winter wheat (2).pdf. *Photosynthetica*, 35(3), pp.453–459.
- Weyhrich, R.A., Carver, B.F. & Smith., E., 1994. Effects of awn suppression on grain yield and agronomic traits in hard red winter whea. *Crop Science*.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T. & Konzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14, pp.415–421.
- Zhang, H., Turner, N.C. & Poole, M.L., 2010. Source–sink balance and manipulating sink–source relations of wheat indicate that the yield potential of wheat is sink-limited in high-rainfall zones. *Crop and Pasture Science*, 61(10), p.852. Available at: <http://www.publish.csiro.au/?paper=CP10161>.
- Álvaro, F. et al., 2008. Grain Filling and Dry Matter Translocation Responses to Source–Sink Modifications in a Historical Series of Durum Wheat. *Crop Science*, 48(4), p.1523. Available at:  
<https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/48/4/1523> [Accessed August 13, 2012].

# Capítulo 2

Fotosíntesis de la Espiga y  
su Papel Buffer en el  
Llenado de Grano

## **Fotosíntesis de la espiga y su papel *buffer* en el llenado del grano en condiciones adversas: cuantificación mediante diferentes aproximaciones experimentales**

### **2.1. Introducción**

Tal como mencionamos en la Introducción general, las partes verdes de la espiga son consideradas importantes durante el llenado de granos desde hace tiempo. Sin embargo, en condiciones de exceso de asimilados la fotosíntesis de la espiga podría tener una importancia menor (Borrás et al. 2004), dado que frente a tratamientos de desfoliado (al menos en variedades relativamente antiguas; Kruk et al. 1997) el peso de granos no se reduce sensiblemente. Tal como fue mencionado anteriormente (ver 'Introducción general'), un punto importante a destacar es que en muchos de los trabajos donde se reporta la ausencia de limitación por 'fuente' en el llenado de los granos, no se contempla el posible efecto compensatorio que podría tener la espiga como órgano fotosintético. Sin embargo, trabajos recientes en trigo fideo (*Triticum turgidum var. durum*) han encontrado que en cultivares modernos la limitación en la disponibilidad de asimilados se manifiesta incluso en condiciones no estresantes (Álvaro et al. 2008).

En cereales de invierno como el trigo (así como en otros cultivos), el déficit hídrico es un estrés común que reduce el rendimiento (v.g. Araus et al. 2002). Como se mencionó en la introducción general, el estrés hídrico conduce a una disminución de la tasa fotosintética y acelera la senescencia (v.g. Martínez et al. 2003). Comparada con la hoja bandera, la tasa fotosintética de la espiga se reduce en menor medida en situación de sequía (en trigo duro Tambussi et al. 2005 y en trigo pan Martínez et al. 2003). Aunque esta aparente tolerancia no es completamente comprendida, parece estar asociada a la mayor habilidad para mantener un mayor contenido relativo de agua en las diferentes partes de la espiga (Tambussi et al. 2005).

Las estimaciones de la contribución asignada a la espiga varían desde 10 a 76%, dependiendo del genotipo, la metodología usada y las condiciones de crecimiento (Abbad et al. 2004). Una de las cuestiones por las que el aporte de las espigas al llenado de granos es poco comprendido puede residir en la dificultad que se ha tenido al momento de cuantificarlo y de separar su aporte de los del resto de las fuentes de asimilados, es decir de la contribución de las hojas y de los retranslocados del tallo. La cuantificación del aporte de la espiga presenta varios inconvenientes de tipo metodológico: I) el modo de expresar las mediciones de fotosíntesis, dada la complejidad del órgano y II) la técnica de eliminación de la fotosíntesis de la espiga, para el cálculo del aporte mediante un estimador indirecto, tal como el peso de los granos.

Respecto al primer punto, la tasa de asimilación puede ser expresada de varias maneras; por área, por peso o por órgano. La forma tradicional de expresarla por área, en la espiga tiene la dificultad que trae aparejada la presencia de las aristas. Puesto que el área de las aristas representa un gran porcentaje del área total de la espiga, el cálculo de su área efectiva es incierto (y sujeto a un error considerable), expresarla en base a PF o PS, puede presentar inconvenientes si la proporción de tejido esclerenquimático entre cultivares no es la misma. Algunos autores proponen que lo más apropiado sería expresar la fotosíntesis de la espiga por órgano (Tambussi et al. 2007).

El cálculo de la contribución de la espiga mediante la eliminación de la fotosíntesis de la espiga (por sombreo con papel aluminio) y posterior análisis del efecto sobre el peso de granos (Araus et al. 1993), es una técnica valiosa dado que integra el aporte de la espiga durante todo el llenado de granos, pero que ha sido criticada por el posible efecto artefactual que produciría al elevar la temperatura de la espiga.

### *Objetivos e hipótesis*

El objetivo de este capítulo fue determinar mediante diferentes aproximaciones experimentales el aporte que realizan los tejidos verdes de la espiga al llenado de los granos en *Triticum aestivum* L., bajo situaciones de disminución de la fuente durante el período post-antesis.

La hipótesis central de esta parte de la tesis es que la fotosíntesis de la espiga de trigo hace un aporte importante al llenado de granos, y esta contribución puede verse aumentada en condiciones de disminución de la fuente (v.g. estrés hídrico, desfoliado).

Una hipótesis secundaria (de índole metodológica) es que la técnica de sombreado ('encapuchado') para la cuantificación de la contribución de la espiga no produce efectos artefactuales en la temperatura de la espiga durante el llenado.

### **2.2. Materiales y métodos**

En términos generales, en esta parte de la Tesis se comparó la contribución fotosintética de la espiga de variedades de trigo con características de espiga contrastantes (largo de aristas), en diferentes condiciones impuestas de disminución de la fuente en el llenado de granos.

En ésta Tesis hemos usado el peso total de granos por espiga como parámetro indicador del total de asimilados fijados durante el llenado, por ser un valor que integra los aportes de la fotosíntesis de la planta pre y post-antesis. Este parámetro además, contempla variaciones en el número de granos y el peso individual de los mismos. Se utilizaron diferentes tratamientos para reducir el aporte de asimilados de la parte vegetativa y así llevar las plantas a condiciones de menor disponibilidad de asimilados durante el llenado, que permitieran realizar las estimaciones del aporte de fotoasimilados de la espiga. En estas condiciones trabajamos bajo el supuesto que variaciones en la disponibilidad de asimilados durante el llenado se ven reflejadas en variaciones en el peso total de los granos, ya que esta variable ha sido ampliamente usada como indicador de la disponibilidad de asimilados en

trabajos de manipulación de la relación fuente-destino (v.g. Fischer & HilleRisLambers 1978).

Para analizar la contribución fotosintética de la espiga, se comparó el peso de granos total de espigas control (intactas, sin tratamiento) con el de espigas con la fotosíntesis reducida mediante diversas técnicas. Se utilizaron 4 aproximaciones diferentes para reducir el aporte de la espiga: sombreado con papel aluminio, corte de las aristas ('desaristado'), sombreado con mallas y disminución de la fotosíntesis mediante un inhibidor específico del transporte de electrones a nivel fotosistema II.

La disminución de la fuente se realizó mediante 3 aproximaciones experimentales que redujeron la capacidad fotosintética del canopeo durante el llenado de granos: déficit hídrico, desfoliado y sombreado con medias sombras,

De la combinación de estas aproximaciones surgieron los 4 experimentos que constituyen este capítulo:

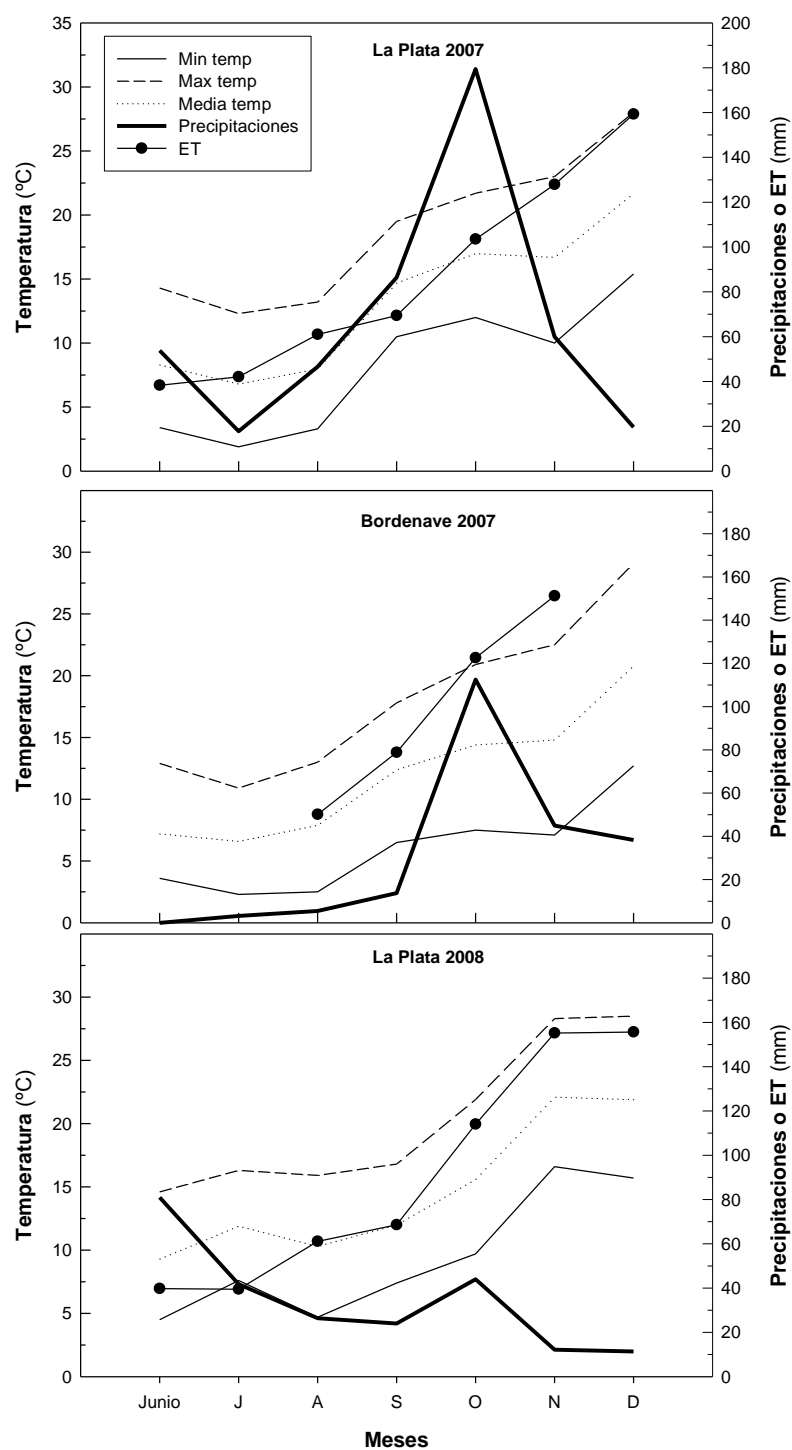
Experimento (I): Cuantificación de la contribución de la espiga al llenado mediante sombreado ('encapuchado'): imposición de disminución de la fuente por desfoliado.

Experimento (II): Contribución de la espiga evaluada por sombreado individual de la espiga con papel aluminio más disminución de la fuente impuesta por déficit hídrico.

Experimento (III): Sombreado parcial y total con mallas y déficit hídrico.

Experimento (IV): Cuantificación de la contribución de la fotosíntesis de la espiga mediante inhibición específica del fotosistema II.

Los experimentos de la Tesis se enumeran en forma correlativa con números romanos (desde el I al XI), incluyendo todos los capítulos.



**Fig. 2. 1 Información meteorológica.** Precipitaciones, evapotranspiración potencial (ET), temperatura media, máxima y mínima durante los meses de experimentos. **Panel superior:** (La plata 2007) Experimento (I). **Panel central:** (Bordenave 2007) Experimento (II). **Panel inferior:** (La Plata 2008) Experimento (III).

### **2.2.1. Experimento (I): Cuantificación de la contribución de la espiga al llenado mediante sombreado: imposición de limitación por fuente por desfoliado.**

#### **Material vegetal y condiciones de cultivo:**

Se utilizaron dos cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) de ciclo largo (cv. Biolnta 3000 y cv. Klein Escudo), los cuales poseen morfología contrastante en la espiga, en particular el largo de aristas (aristas cortas y aristas largas respectivamente).

Los cultivares fueron sembrados el 29 de Junio del 2007 en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>1</sup> (UNLP), en parcelas de 1.4 x 6.4 m, (7 surcos, 20 cm. entre surcos), en bloques aleatorizados con tres repeticiones.

La densidad de plantas fue de 250 plantas por m<sup>2</sup>. Se fertilizó con fosfato diamónico 100 kg ha<sup>-1</sup>, inmediatamente después de la siembra y con urea 250 kg ha<sup>-1</sup>, 75 días después de la siembra. La emergencia fue el 17 de julio. Las plagas fueron controladas por aplicación productos según lo recomendado.

Las condiciones climáticas se pueden ver en la Fig. 2. 1 (panel superior, La Plata 2007). Desde la siembra a cosecha se registraron 407 mm de lluvia y durante el llenado la temperatura media fue de 16 °C aproximadamente.

#### **Diseño experimental**

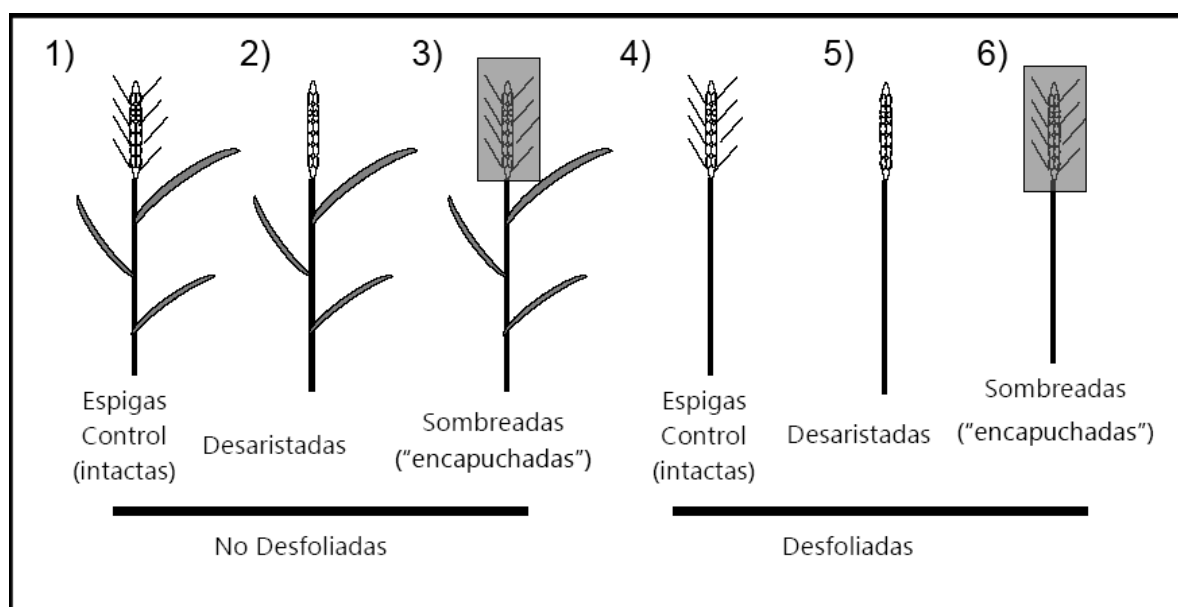
Los tratamientos que se detallan a continuación se impusieron 10 días después de antesis (DDA). La fecha de antesis se estimó como aquella en la cual el 50% de las espigas de la parcela presentaba anteras visibles (GS69, Zadoks et al. 1974). En cada parcela se incluyeron los siguientes seis tratamientos:

---

<sup>1</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

- (1) plantas sin desfoliado con espigas intactas,
- (2) plantas sin desfoliado con espigas desaristadas,
- (3) plantas sin desfoliado con espigas sombreadas,
- (4) plantas desfoliadas con espigas intactas,
- (5) plantas desfoliadas con espigas desaristadas y
- (6) plantas desfoliadas con espigas sombreadas.

Los tratamientos se ilustran en la Fig. 2.2.



**Fig. 2. 2 Diagrama mostrando los 6 tratamientos del experimento (I).** Los tratamientos (1), (2) y (3) corresponden a plantas no desfoliadas con las espigas control (*i.e.* intactas), desaristadas y sombreadas respectivamente y los tratamientos (4), (5) y (6) a plantas desfoliadas con espigas control, desaristadas y sombreadas respectivamente. Para más detalles ver Materiales y Métodos (adaptado de Maydup et al.

2010)

Los tratamientos de desfoliado se realizaron en todos los vástagos ubicados a lo largo de 1 m de longitud sobre la hilera, eliminando la hoja bandera y la inmediata inferior (debido a senescencia de las hojas basales, esta defoliación fue casi total. El tratamiento de sombreado de la espigas se realizó por encapuchado con papel de aluminio con 10 perforaciones realizadas con un sacabocados (diámetro aproximado de 5 mm) para permitir el flujo de aire y evitar la acumulación de gases (v.g. etileno, CO<sub>2</sub>) y el aumento de la temperatura. Con el fin de minimizar el efecto borde, todos los tratamientos se impusieron usando solamente los tres surcos centrales de la parcela.

A madurez se analizó el peso y número de granos de 7 espigas de cada uno de los tratamientos. También se midió el peso medio de granos individuales de posiciones específicas dentro de la espiga (denominados como en Kruk et al. 1997).

Para analizar en forma indirecta la contribución fotosintética relativa de la espiga, se comparó el peso de granos total de espigas control *versus* el de espigas con la fotosíntesis reducida por sombreado según la siguiente expresión:

$$= \left[ \frac{(PG_{\text{espigasno sombreadas}} - PG_{\text{espigassombreadas}}) \times 100}{PG_{\text{espigasno sombreadas}}} \right]$$

donde PG es el peso total de granos por espigas.

Para expresar las diferencias morfológicas de las espigas de cv. Biolnta 3000 y del cv. Escudo se cuantificó el tamaño de las aristas de cada cultivar, calculando el peso fresco (PF) de aristas por espiguilla por espiga (mg PF arista espiguilla<sup>-1</sup>) (ver Fig. 2. 7).

#### *Patrón térmico diario de espigas intactas y encapuchadas*

Con el objeto de descartar que el encapuchado de espigas produzca una alteración artefactual de la temperatura (lo cual podría afectar el llenado), se registró la temperatura cada 15 minutos (durante varios días) a través de sensores de termocuplas insertos debajo de las glumas (cobre-constantano

tipo 'T', TC1047A, Microchips Inc, Cavadevices.com) de 8 espigas encapuchadas y de 8 espigas control (Ver Fig. 2. 6).

### **2.2.2. Experimento (II): contribución de la espiga evaluada por sombreado de espigas con déficit de fuente impuesto por déficit hídrico.**

#### **Material vegetal y condiciones de cultivo:**

Se trabajó con dos cultivares, caracterizados por tener diferente tolerancia a la sequía y similar fecha de antesis: cv. Baguette Premium 11, de menor tolerancia (mayor rendimiento potencial y aristas cortas) y cv. Huenpan, de mayor tolerancia (menor rendimiento potencial y aristas largas; ver Fig. 2. 10). La tolerancia de los materiales a la sequía es una comunicación personal del Ing. López (breeder del INTA Bordenave, al Dr. Eduardo Tambussi).

El ensayo se realizó en el Campo Experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Bordenave (SO de la provincia de Buenos Aires<sup>2</sup>). Ésta es una zona donde son frecuentes los episodios de estrés hídrico entre los meses de octubre y diciembre ([www.smn.gov.ar](http://www.smn.gov.ar)), período en que se verifica el llenado de los granos de trigo (ver Fig. 2. 1 Bordenave 2007).

La siembra se realizó el 3 de julio del 2007 en parcelas de 1.4 x 11 m, (7 surcos, 20 cm entre surcos), en bloques aleatorizados con cuatro (cv. B. Premium 11) y tres (cv. Huenpan) repeticiones. La densidad de plantas fue de 250 plantas por m<sup>2</sup>. Se fertilizó con fosfato diamónico 100 kg ha<sup>-1</sup>, inmediatamente después de la siembra y con urea 250 kg ha<sup>-1</sup>, 75 días después de la siembra. La emergencia fue el 4 de agosto, un mes después de la siembra debido a una ola de frío que afectó a todo el país ([www.smn.gov.ar](http://www.smn.gov.ar)).

Las condiciones climáticas se ven en la Fig. 2. 1 (Panel central: Bordenave 2007).

---

<sup>2</sup> (37° 50' 55"S; 63° 01' 20"W), Argentina

## **Diseño experimental**

A partir de antesis (GS69, Zadoks et al. 1974) se comenzó a regar la mitad de los bloques (la otra mitad se dejó bajo seco, (ver Fig. 2. 1 Bordenave 2007); se aplicaron 50 mm adicionales distribuidos desde antesis a madurez cuando las condiciones climáticas lo requirieron.

Al cumplirse los 7 DDA se seleccionaron espigas de los vástagos principales con igual número de espiguillas, ubicadas en los 3 surcos centrales de la parcelas y se les aplicó el tratamiento de sombreo con papel aluminio (espigas encapuchadas; ver experimento I) y se marcaron espigas sin sombrear como tratamiento control (ver Fig. 2. 2).

## **Muestreos y mediciones**

A madurez se cosecharon 7 espigas de cada tratamiento y se determinó el peso y número de granos por espiga.

### **2.2.3. Experimento (III): sombreo con mallas y déficit hídrico**

Este experimento se realizó en La Plata, una localidad con baja ocurrencia de sequías en el período post-antesis. Sin embargo, en la campaña del 2008 en La Plata, se registraron muy bajas precipitaciones y se registró un acentuado déficit hídrico ([www.smn.gov.ar](http://www.smn.gov.ar)).

### **Material vegetal, condiciones de cultivo y diseño experimental:**

Se utilizaron los mismos cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) que en el experimento de (II) (*i.e.* cv. BioInta 3000 y cv. Klein Escudo, con aristas cortas y con aristas largas respectivamente, ambos de ciclo largo).

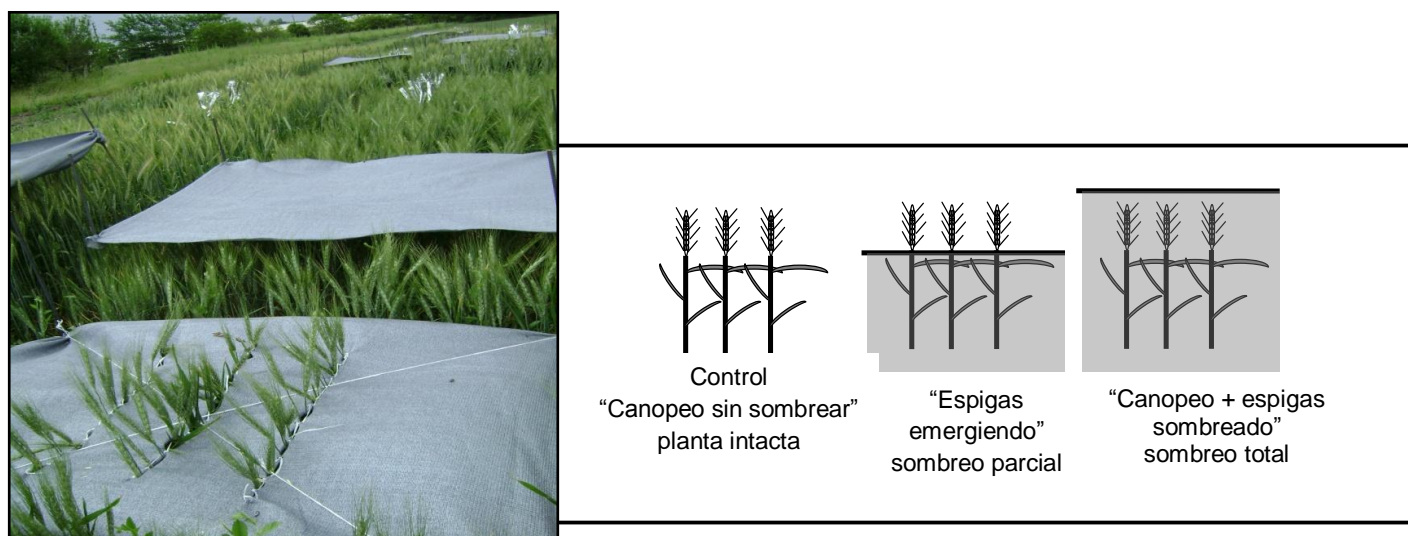
Las condiciones de cultivo también fueron similares a las del experimento (I). La siembra se realizó el 10 de julio en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>3</sup> (UNLP), en

---

<sup>3</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

parcelas de 1.4 x 6.4 m, en bloques aleatorizados con tres repeticiones por tratamiento. La emergencia fue el 25 de julio.

Después de anthesis (GS69, Zadoks & Board 1974) la mitad de los bloques se comenzó a regar y se continuo hasta madurez. Los bloques sin riego, (tratamiento “secano”), recibieron desde siembra a cosecha 121 mm de agua, producto de las precipitaciones. Los bloques de riego, además del agua de lluvia, recibieron 75 mm adicionales, repartidos durante el llenado de grano. El disminución de asimilados se impuso (además de por sequía), por sombreado de la parte vegetativa con mallas colocadas 10 DDA. Para esto se utilizaron medias sombras “Premium gris” (1 m x 1,4 m de transmitancia = 10 % de la radiación fotosintéticamente activa). Los tratamientos (Fig. 2. 3) fueron: (1) plantas controles (sin sombrear o intactas), (2) plantas con las espigas emergiendo sobre las mallas o sombreado parcial y (3) plantas completamente cubiertas con las mallas o sombreado total. Los tratamientos de sombreado se aplicaron cubriendo los 7 surcos de las parcelas.

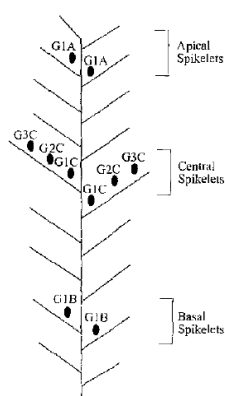


**Fig. 2. 3. Fotografía (izquierda) y diagrama (derecha) mostrando los tratamientos de sombreado total o parcial (i.e. espiga emergiendo) con las mallas y el tratamiento control del experimento (3) (ver Materiales y Métodos para más detalles).**

El experimento se repitió en el 2009 pero debido a las altas precipitaciones no se llegó a una situación de déficit hídrico.

## Muestreos y mediciones

Para realizar los muestreos se seleccionaron plantas de los 3 surcos centrales. A madurez se muestrearon 7 espigas de cada tratamiento, seleccionando espigas de similar número de espiguillas. Se registró el peso total de la espiga, el peso total y el número de granos por espiga y el peso individual de granos identificando su posición en la espiga como en Kruk et al. 1997).



**Fig. 2. 4. Posición de los granos dentro de la espiga y su nomenclatura.** (Extraído de Kruk et al. 1997)

La contribución de la fotosíntesis de la espiga se calculó como:

$$= \left[ \frac{(GW_{\text{"espigas emergiendo"}} - GW_{\text{"canopeo+ espigas sombreado"}}) \times 100}{GW_{\text{"sin sombreado"}}} \right]$$

donde PG representa al peso de granos total por espiga.

### *Análisis de retranslocados del tallo*

En antesis (GS69, Zadoks & Board, 1974) y a madurez fisiológica (GS89, Zadoks & Board, 1974) se midió el peso seco de los tallos diferenciando entrenudos. Se denominó entrenudo 1 al que se corresponde con el pedúnculo de la espiga, 2 al próximo y así sucesivamente en sentido basípeto. Se calculó la materia seca translocada (DMT) como la pérdida de peso del tallo (incluyendo la vaina de las hojas) entre antesis y madurez. La

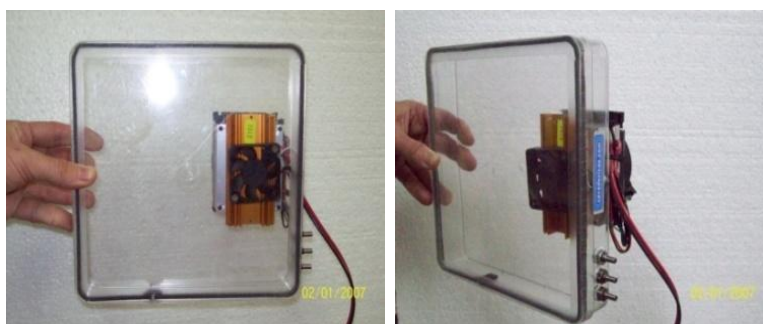
eficiencia de materia seca translocada (DMTe %) y la contribución del tallo de asimilados pre-antesis (CPA) se calculó como en Álvaro et al., 2008.

$$DMTe = \left( \frac{DMT}{DM_{\text{antesis}}} \right) \times 100$$

$$CPA = \left( \frac{DMT}{GW_{\text{ear}}} \right) \times 100$$

### Mediciones de la tasa fotosintética

En un experimento a campo en La Plata usando similares condiciones de siembra y cultivares que el experimento (III) (pág 49), se realizaron mediciones de la tasa de fotosíntesis de la espiga durante el llenado de granos. Las mediciones de intercambio gaseoso se realizaron a los 4, 17, 23 DDA con una cámara plástica transparente (plexiglass) de 1,5 L (Cavadevices.com) conectada a un sistema de intercambio de gases IRGA (*Portable Photosynthesis System CIRAS 2, PP Systems*). La temperatura dentro de la cámara se mantuvo en 30 °C mediante un sistema Peltier. La cámara fue iluminada unilateralmente mediante dos lámparas dicróicas de 500W, el flujo fotónico fotosintético fue de 850  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Las mediciones se realizaron entre las 11.00 y las 14.00 hs am. Las medidas fueron hechas alternadamente entre cultivares para evitar el sesgo debido a la variación del momento de medida.



**Fig. 2. 5. Fotografías de la cámara plástica para la medición de fotosíntesis en la espiga.** Esta cámara se adosó al sistema de intercambio de gases (IRGA). En las fotografías se muestra el Peltier que evita el aumento de la temperatura

#### **2.2.4. Experimento (IV): cuantificación de la contribución de la fotosíntesis de la espiga mediante inhibición específica del fotosistema II**

Este experimento fue llevado a cabo para presentar una aproximación experimental diferente y complementaria a los ensayos de sombreado de las espigas. Se comparó el tratamiento de encapuchado vs. un tratamiento con un inhibidor específico del transporte fotosintético de electrones, DCMU (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea; 'Diurón'). El DCMU es un inhibidor específico del transporte de electrones fotosintético, a nivel del fotosistema II (Allen and Holmes, 1986).

##### **Material vegetal y condiciones de cultivo:**

Este experimento se realizó en el 2007 en condiciones semi-controladas (invernadero), La Plata, en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE CONICET-UNLP). La siembra se realizó en macetas de 5 l con buena disponibilidad hídrica y fertilización adecuada. Se utilizó un único cultivar de trigo pan cv. Arriero.

##### **Tratamientos:**

Después de anthesis las espigas fueron rociadas con 10 ml de DCMU 100  $\mu$ M más el surfactante Tween 20 (0,1% v/v). Las espigas control fueron asperjadas sólo con el surfactante. Las aplicaciones fueron realizadas con las espigas dentro de una bolsa y rodeando el pedúnculo para evitar que la solución del inhibidor se disperse a otros órganos verdes. La fotosíntesis de las glumas, aristas, hoja bandera fue registrada al mediodía por fluorescencia modulada de la clorofila (método del pulso saturante), a los días 1, 4 y 14 después de la aplicación.

Se midió el rendimiento cuántico del PSII y la tasa de transporte de electrones ('*electron transport rate*', ETR) se calculó como en Rosenqvist & van Kooten (2003).

$$ETR = [\phi_{PSII} * PPFD * 0,5 * a]$$

donde PPFD es la densidad de flujo fotónico fotosintético incidente, 'a' es la fracción de luz que es absorbida por la hoja (*i.e.* absorbancia, la cual se asume como ca. 0.8, el cual es valor muy conservado dentro de diferentes especies (Tambussi y Graciano 2010) y 0.5 es la fracción de luz absorbida por el PSII (asumiendo una distribución equivalente de fotones en ambos fotosistemas (Maxwell & Johnson 2000). El  $\phi_{PSII}$  es proporcional al rendimiento cuántico de la asimilación de CO<sub>2</sub> en condiciones no-foto respiratorias y a la ETR se lo considera un buen estimador no destructivo y no invasivo de la actividad fotosintética. (Rosenqvist & van Kooten 2003).

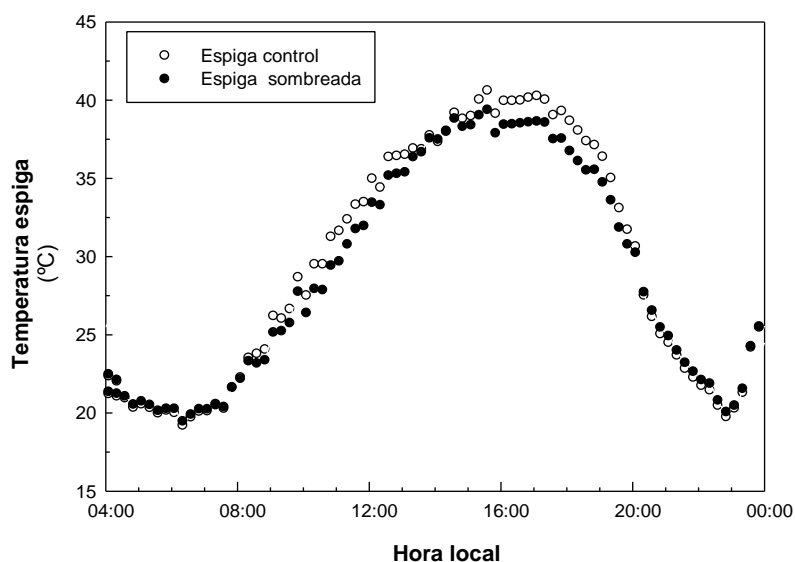
A madurez se midió el peso total y número de granos por espiga.

#### Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el *Statistica 7 software* (StartSoft, Inc). Las diferencias fueron analizadas por ANOVA y las comparaciones de medias se realizaron por el test LSD ( $p < 0,005$ ).

### 2.3. Resultados

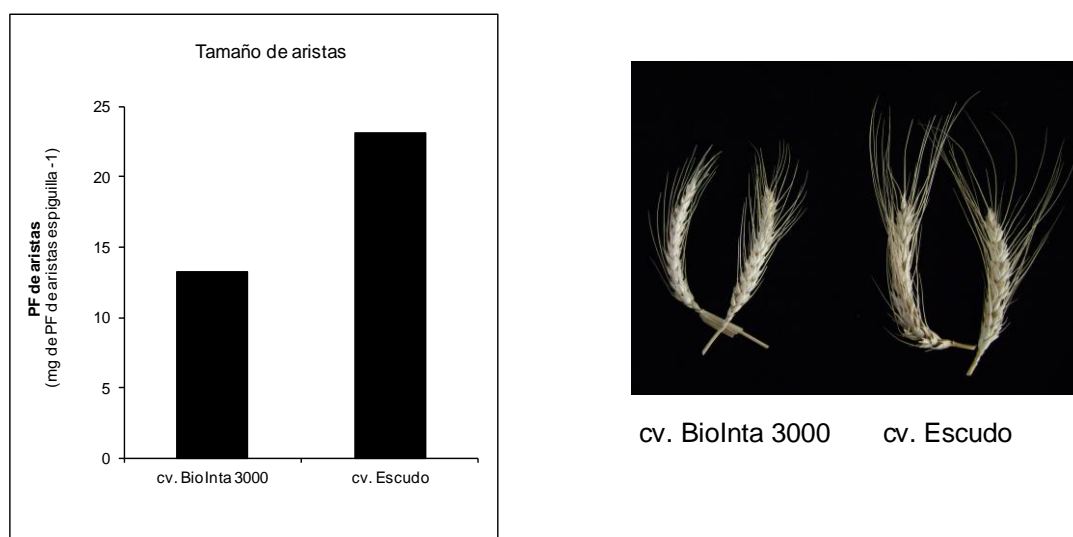
En la Fig. 2. 6 se puede ver el registro de las temperaturas durante el curso del día de espigas control (no sombreadas) y encapuchadas (sombreadas con papel aluminio) del cv Biolnta 3000. Se descarta el posible efecto artefactual del tratamiento de encapuchado sobre la temperatura de la espiga, ya que como se puede apreciar en el gráfico, las espigas sombreadas no mostraron aumentos respecto de las controles (más bien se observa la tendencia opuesta).



**Fig. 2. 6. Patrón térmico de las espigas experimento (I).** Panel de la izquierda: fotografía de las espigas intacta (izquierda) y encapuchada (derecha) con las termocuplas insertas en las glumas. Panel de la derecha: Curso de la temperatura de las respectivas espigas a lo largo del día. Cada línea es la media de ocho espigas. Se muestran solo los valores de las temperaturas del cv. Biolnta 3000, dado que en los dos cultivares se encontraron resultados similares.

### 2.3.1. Experimento (I): Cuantificación de la contribución de la espiga al llenado mediante sombreado e imposición de limitación por fuente por desfoliado.

En la Fig. 2. 7 se muestran las diferentes morfologías de las espigas de los dos cultivares utilizados en este estudio (i.e. cv. BioInta 3000 y cv. Escudo). En el panel izquierdo se puede ver la cuantificación del peso de aristas por espiguilla de ambos cultivares. El PF de aristas por espiguilla de cv. Escudo ( $23,2 \text{ mg espiguilla}^{-1}$ ) casi duplica el de BioInta 3000 ( $13,2 \text{ mg espiguilla}^{-1}$ ).



**Fig. 2. 7** Morfología de las espigas de los cvs, BioInta 3000 y Escudo. **Panel izquierdo:** tamaño de las aristas (PF aristas espiguilla<sup>-1</sup>). **Panel derecho:** fotografías de la espigas de los cultivares en madurez fisiológica. Estos cultivares fueron utilizados en el experimento (II) y (III).

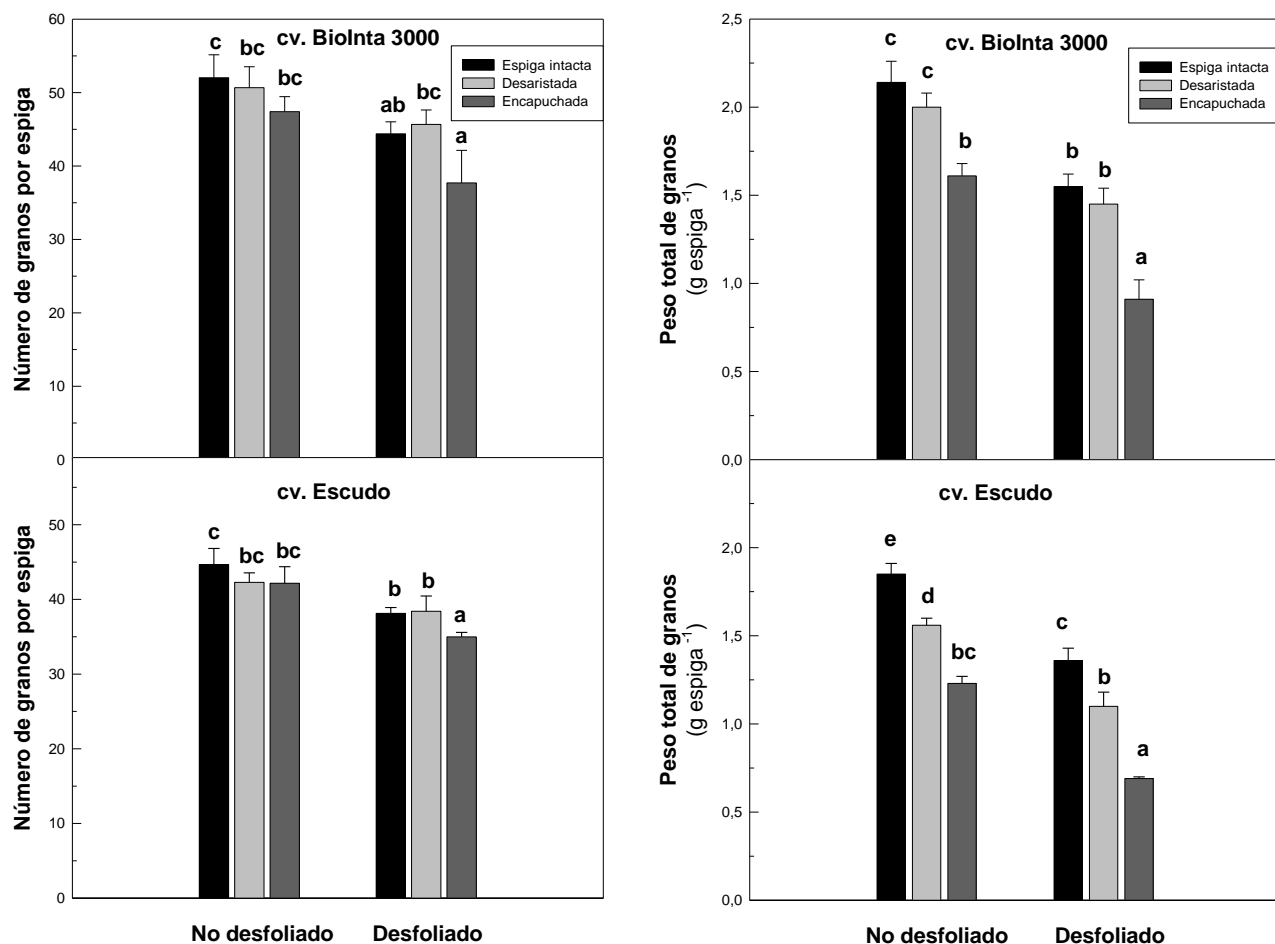
En este experimento se trabajó con déficit de fuente impuesto por desfoliación (de la hoja bandera más la inmediatamente inferior) que significó casi la totalidad de las hojas verdes, dado el estado de senescencia de las plantas (ver Tabla 2.1).

**Tabla 2. 1 Reducción del área foliar por efecto del desfoliado:** Se muestra el área foliar total y el porcentaje de reducción al aplicarse el tratamiento de desfoliado para los dos cultivares utilizados en el experimento (I).

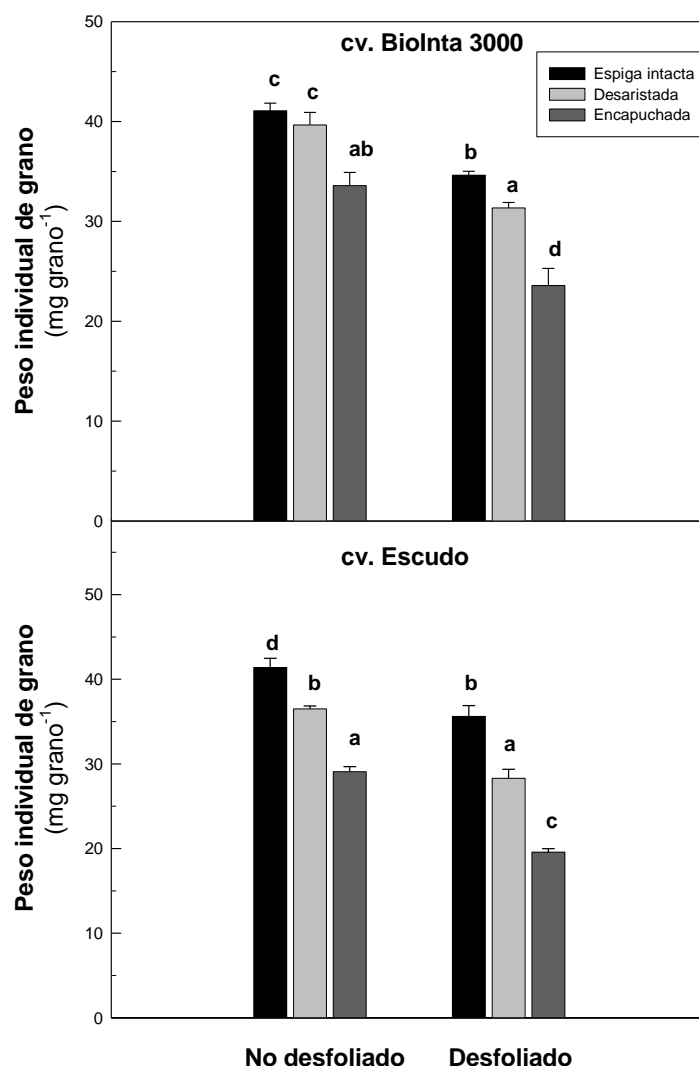
Cultivar	Área foliar total (cm <sup>2</sup> )	% reducción del área
cv. Biolnta 3000	123,77	85,37
cv. Escudo	100,01	95,43

En la Fig. 2. 8 se muestra el efecto de los diversos tratamientos (*i.e.* desfoliado, desaristado y encapuchado) sobre el peso total de granos por espiga (PG) en ambos cultivares. El tratamiento de desfoliado produjo una disminución de la fuente de asimilados, ya que redujo el PG en un 25% en los dos cultivares. El desaristado en el cv. Biolnta 3000 (de aristas pequeñas) no llevó a una disminución significativa del PG, mientras que en el cv. Escudo (aristas grandes) el PG se redujo en un 15 y 19 % en plantas no desfoliadas y desfoliadas respectivamente. El sombreado de las espigas (*i.e.* encapuchado) redujo el PG en los dos cultivares, en un 25 y 41% para Biolnta 3000 y en un 33 y 49% para Escudo, en plantas intactas (no desfoliadas) y desfoliadas respectivamente. En este experimento, el número de granos por espiga fue algo afectado, ya que se observa una tendencia a una leve reducción con los diversos tratamientos respecto del valor de referencia (*i.e.* espigas y plantas intactas).

Como se puede ver en la Tabla 2. 3, la contribución fotosintética de la espiga al llenado de granos en las plantas no desfoliadas fue mayor en el cv. Escudo que en cv. Biolnta 3000. En las plantas desfoliadas, la contribución del cv. Escudo, también fue la mayor, aunque las diferencias no fueron significativas.



**Fig. 2. 8. Número y peso total de granos por espiga de los cultivares Biolnta 3000 (paneles superiores) y Escudo (paneles inferiores) del experimento (I). Panel izquierdo: número de granos por espiga. Panel derecho: peso total de granos por espiga.** Cada valor representa la media  $\pm$  s.e. de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se midieron 7 espigas por tratamiento y se promediaron. Para cada cultivar, las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo al test de LSD. Para más detalles de los tratamientos, ver Fig. 2. 2.



**Fig. 2. 9** Peso individual de granos de los cultivares Biolnta 3000 (panel superior) y Escudo (panel inferior) del experimento (I). Cada valor representa la media  $\pm$  s.e. de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se midieron 7 espigas por tratamiento y se promediaron. Para cada cultivar, las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo al test de LSD. Para más detalles de los tratamientos, ver Fig. 2. 2.

En este experimento se analizó la reducción de peso de granos de posiciones específicas y se encontró que en ambos cultivares, el grano más afectado por la reducción de fuente fue el más distal dentro de la espiguilla (G3 para el cv. Biolnta 3000 y G3 o G2 para el cv. Escudo; Tabla 2.2).

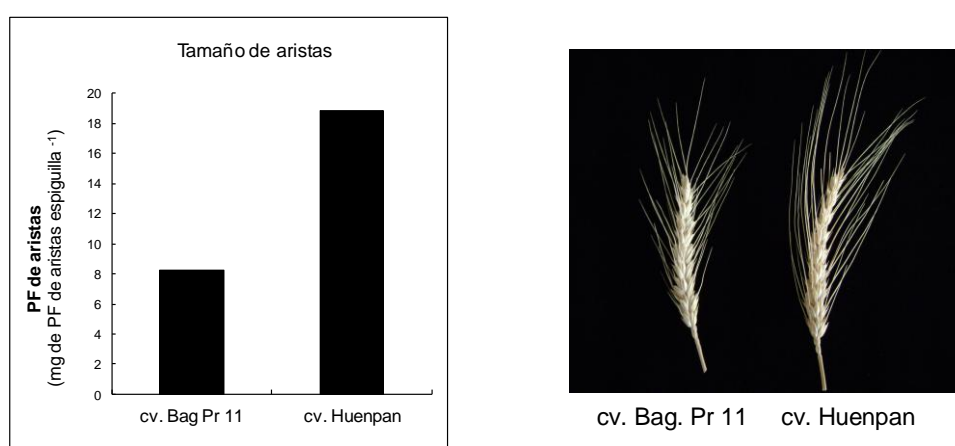
**Tabla 2. 2 Peso individual de granos (mg) de posiciones específicas dentro de la espiga de los cv Biolnta 3000 y cv. K. Escudo en el experimento (I).** La posición de los granos es referida como se indica en Materiales y Métodos. La primera parte de la abreviatura se refiere al tratamiento que se le realizó a las hojas (C= control o plantas no desfoliadas y D= plantas desfoliadas) y la segunda parte de la abreviatura al tratamiento que se le realizó a la espiga (C= espiga intacta, D= espiga desaristada y E= espiga sombreada (i.e. encapuchada). Cada valor representa el peso de cada grano en la posición indicada y los valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de reducción del peso de cada posición y tratamiento respecto al valor de peso de grano del tratamiento C/C.

cv. Biolnta 3000	Espiguillas basales			Espiguillas centrales			Espiguillas apicales	
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2
C/C	45,1 (0)	49,1 (0)	36,3 (0)	50,2 (0)	50,0 (0)	34,2 (0)	38 (0)	36,7 (0)
C/D	38,2 (15)	43,6 (11)	24 (34)	43,9(12)	45,5 (9)	23,1 (3.4)	35,3 (7.1)	30,7(16)
C/E	39,2 (13)	39,6 (19)	23,9 (34)	41,1 (18)	42,5 (15)	19,2 (44)	31,1 (18)	23,9 (35)
D/C	34,8 (22)	37,5 (23)	12,5 (66)	43,3(13)	43,1 (14)	10,5 (69)	32,5 (15)	28,6 (22)
D/D	34,2 (24)	39,2 (20)	12,0 (67)	36,6 (27)	39,5 (21)	16,5 (51)	30,2 (21)	27,7(62)
D/E	29,3 (34)	29,9 (39)	0,5 (98)	30,4 (39)	25,9 (48)	1,1 (97)	23 (39)	13,9 (62)

cv. K. Escudo	Espiguillas basales			Espiguillas centrales			Espiguillas apicales	
	G1	G2	G1	G2	G3	G1	G2	
C/C	36,3 (0)	41 (0)	49,3 (0)	54,3 (0)	33 (0)	43,3 (0)	39,4 (0)	
C/D	37,7 (0)	40,9 (0)	43,7 (11)	43,4 (20)	25,4 (23)	37,2 (14)	35,8 (9)	
C/E	32,3 (13)	31,4 (23)	39,4 (20)	38,3 (30)	23,3 (29)	28,3 (35)	27,1 (31)	
D/C	37,9 (0)	35,9 (12)	46,8 (5)	50,5 (7)	22,2 (33)	31,1 (28)	37,9 (4)	
D/D	24 (34)	29,3 (29)	32,2 (34)	34,4 (37)	14,9 (55)	26,1 (39)	23,4 (40)	
D/E	18,4 (49)	22,9 (44)	25,6 (48)	26,9 (51)	11,6 (64)	20,7 (52)	20,7 (45)	

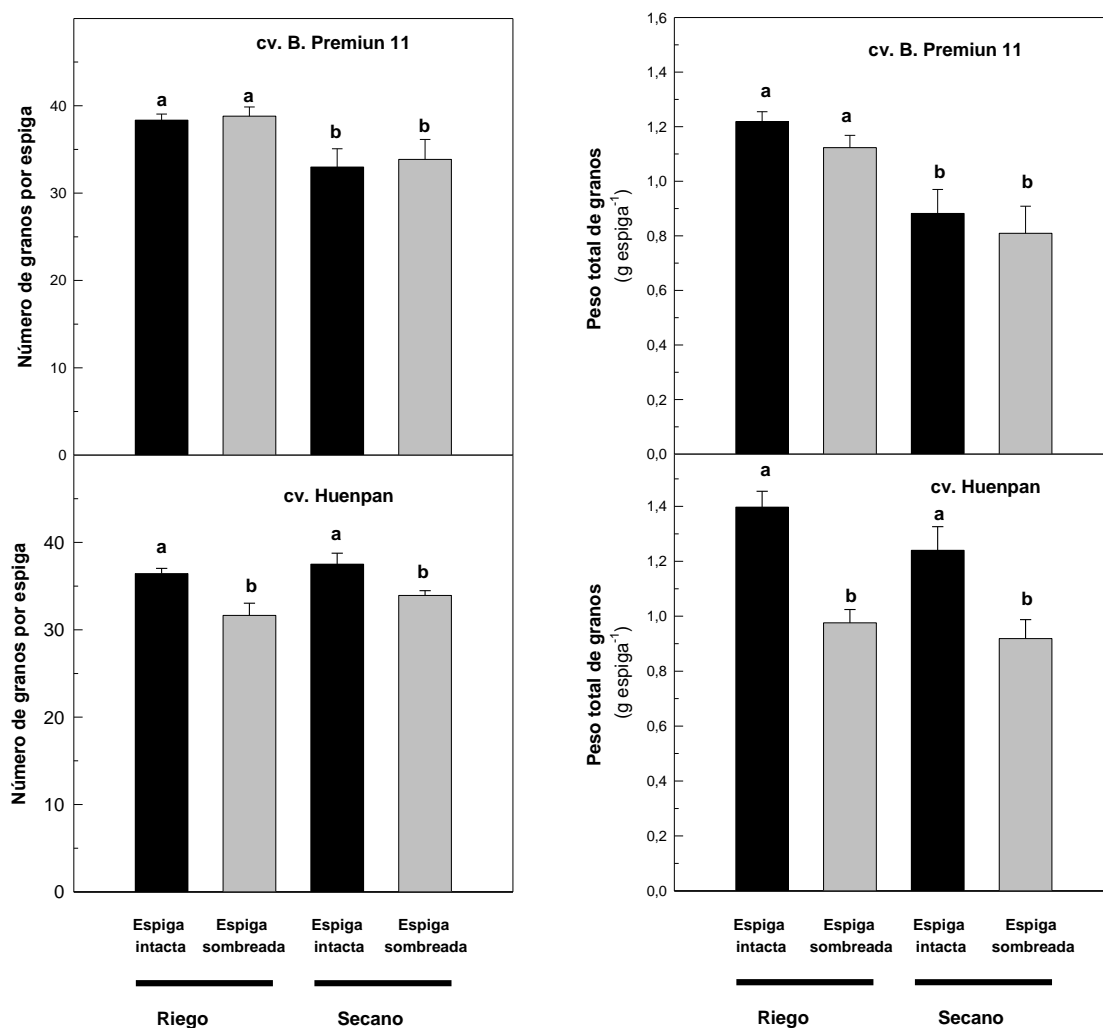
**2.3.2. Experimento (II): contribución de la espiga evaluada por sombreado de espigas con déficit de fuente impuesto por déficit hídrico.**

Las diferencias en el tamaño de aristas de los dos cultivares analizados (i.e. cv Baguette Premiun 11 y cv. Huenpan) se pueden ver cuantificadas en el gráfico de PF de aristas por espiguilla (ver Fig. 2. 10, panel de la izquierda). Las espigas del cv. Huenpan casi duplican en la proporción de aristas a las del cv. Bag. Pr 11, siendo el PF de aristas de Huenpan de 18,9 mg espiguilla<sup>-1</sup> y el de Bag. Pr11 de 8,24 mg espiguilla<sup>-1</sup>.

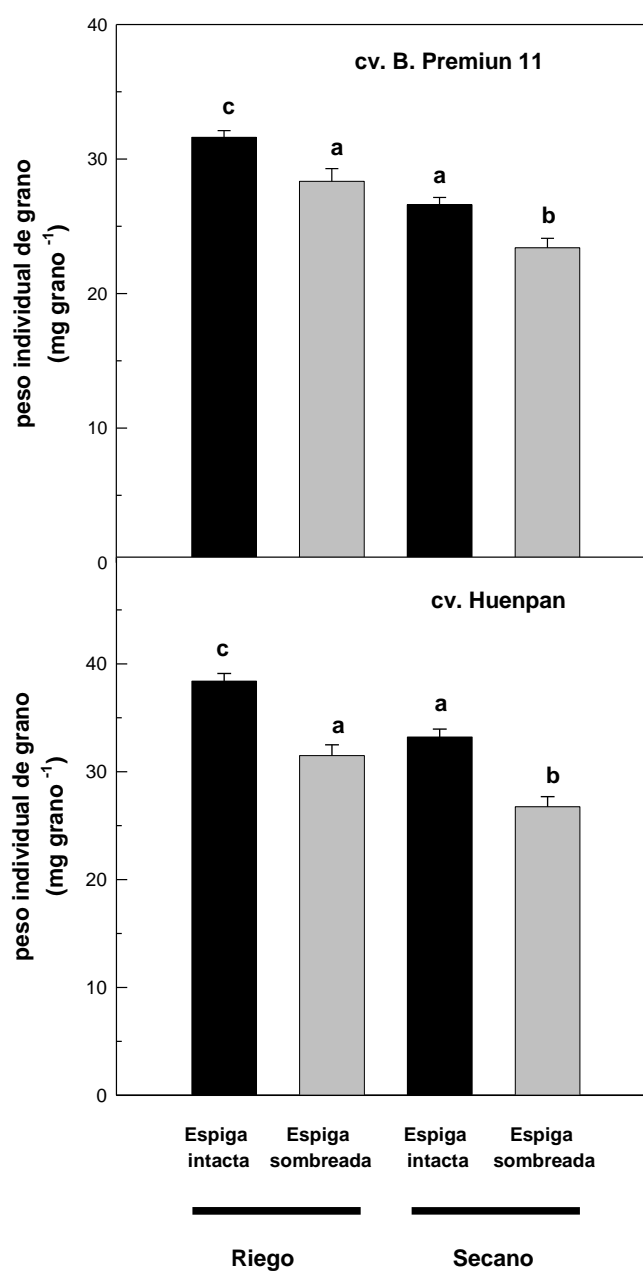


**Fig. 2. 10. Morfología de las espigas de los cultivares Baguette Premiun 11 (cv. Bag. Pr11) y Huenpan del experimento (II). Panel izquierdo: tamaño de las aristas de cv. Bag. Pr 11 y cv. Huenpan. Panel derecho: fotografías de la espigas de ambos cultivares**

El sombreado de las espigas sólo redujo significativamente el peso de granos en cv. Huenpan (28 y 26,6% para riego y secano respectivamente), mientras que en Bag. Premiun 11 la reducción (10%) no fue significativa.

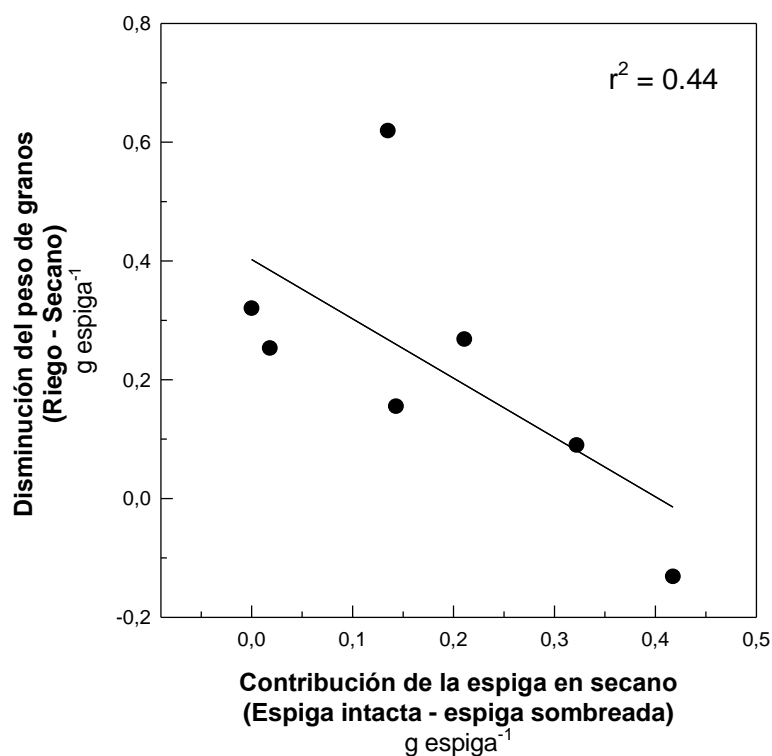


**Fig. 2. 11. Número y peso total de granos por espiga de los cultivares Bag. Pr 11 (paneles superiores) y Huenpan (panel inferiores) del experimento (II). Panel izquierdo: número de granos por espiga. Panel derecho: peso total de granos por espiga. Cada valor representa la media ± s.e. de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se midieron 7 espigas por tratamiento y se promediaron. Para cada cultivar, las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo al test de LSD. Para más detalles de los tratamientos ver Fig. 2.2.**



**Fig. 2. 12** Peso individual de granos por espiga de los cultivares Bag. Pr 11 (panel superior) y Huenpan (panel inferior) del experimento (II). Cada valor representa la media  $\pm$  s.e. de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se midieron 7 espigas por tratamiento y se promediaron. Para cada cultivar, las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo al test de LSD. Para más detalles de los tratamientos ver Fig. 2.2.

El déficit hídrico sólo redujo significativamente el peso de granos en el cultivar de espigas más chicas, aunque debe aclararse que esta observación puede ser sólo coincidental. Esto se puede observar comparando los valores de peso total de granos de las espigas control, de riego vs. secano (ver en la Fig. 2. 11 las barras negras de los paneles de la derecha). El déficit hídrico redujo un 25% el peso de granos del cv. Bag. Pr 11, (espigas menores), mientras que en el cultivar de espigas mayores la reducción no fue significativa (cv. Huenpan reducción 11%).



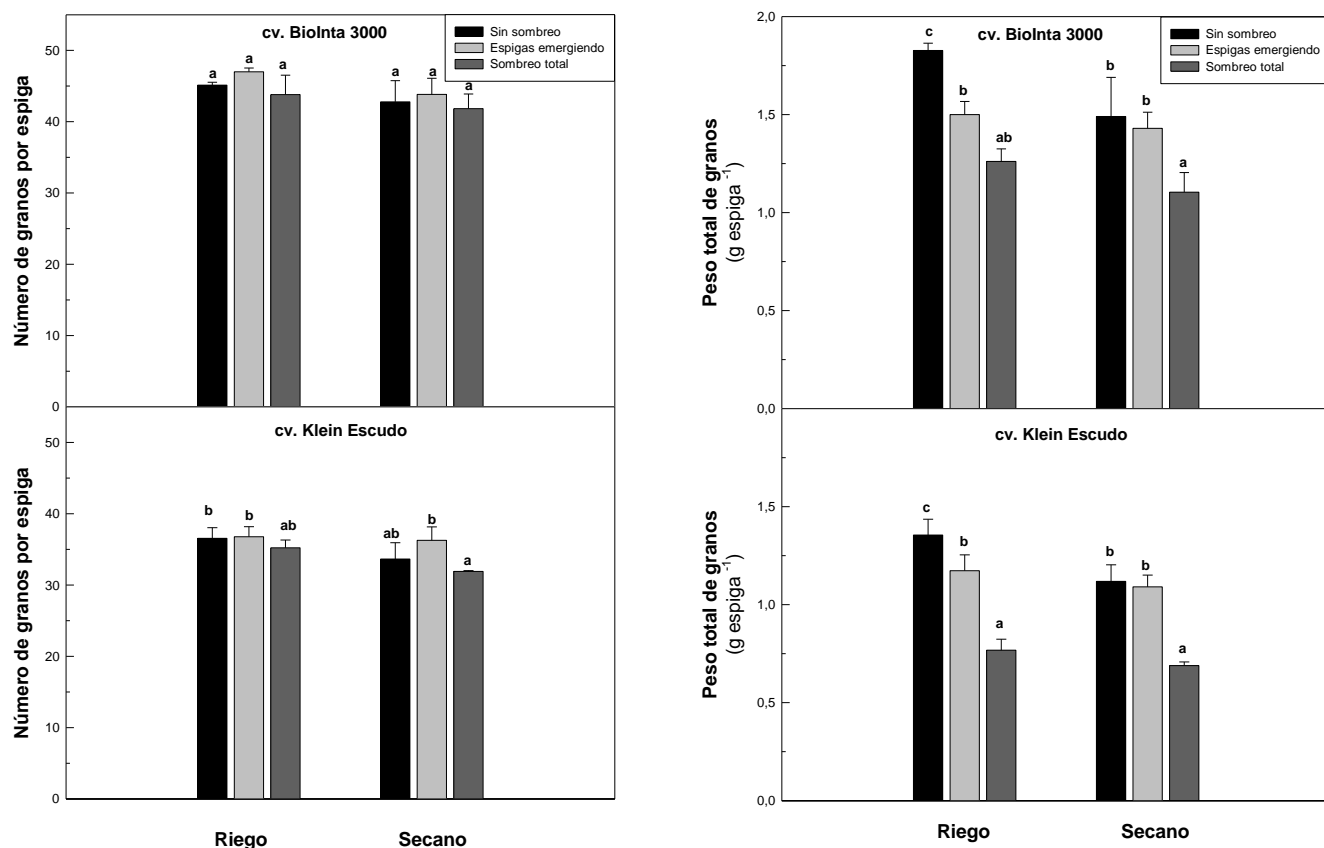
**Fig. 2. 13. Disminución del peso de granos por déficit hídrico vs. aporte de la espiga.** Cada punto representa la media de una parcela. Por parcela se analizaron 7 espigas por tratamiento. La disminución de peso debido a la sequía se calculó como la diferencia entre peso de grano tratamiento de riego y de secano y la contribución de la espiga se calculó como la diferencia de peso de granos entre espigas intactas y espigas encapuchadas.

Contrastando ambos parámetros (*i.e.* aporte de la espiga vs, reducción del peso de los granos por espiga) se observa una correlación negativa. ( $r^2 = 0,44$ ; Fig. 2. 13).

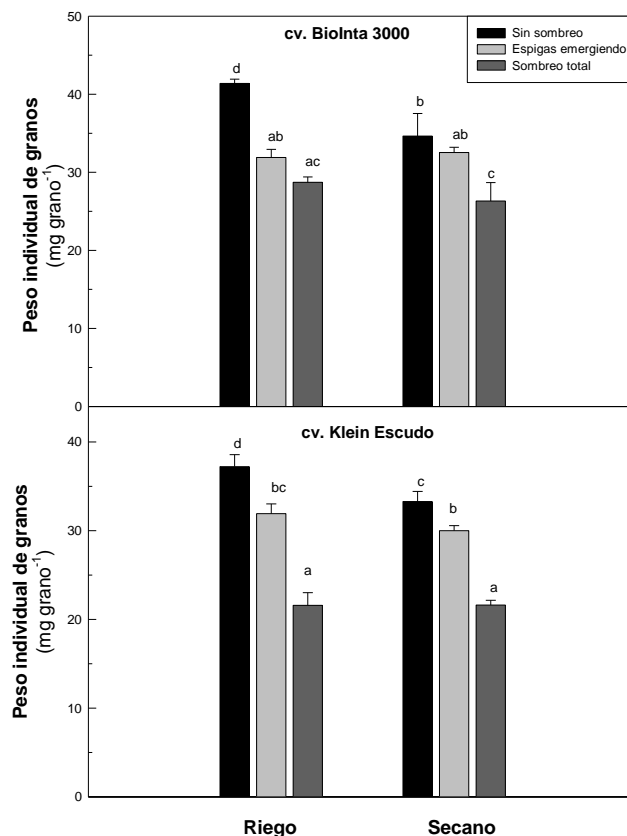
En lo que respecta al número de granos por espiga, el tratamiento de encapuchado en el cv. Bag. Pr11 no tuvo efecto, pero sí sobre el cv. Huenpan. En este cultivar, la reducción del número de granos por el encapuchado fue de 12,74 y 9,62% para los tratamientos de Riego y Secano respectivamente. De todos modos, el porcentaje de reducción del peso individual de granos fue mayor que la reducción del número de granos (porcentaje de reducción del peso individual de grano 18 y 19,5% para riego y secano respectivamente, Fig. 2. 12).

### **2.3.3. Experimento (III): sombreado parcial y total con mallas y déficit hídrico**

En esta aproximación se comparó la contribución de la espiga de canopeos totalmente sombreados (*i.e.* incluyendo las espigas) vs. el canopeo sombreado pero con las espigas expuestas a la radiación directa (“espigas emergiendo”), quedando en este último caso las espigas como principales órganos fotosintéticos (ver Fig. 2. 3). En este experimento, el déficit hídrico disminuyó el PG en los dos cultivares, siendo esta reducción del 17 y 20% en cv. Biolnta 3000 y Escudo respectivamente (Fig. 2. 14; panel derecho, barras negras). Comparando el PG de las planta control (*i.e.* no sombreadas) vs. el PG de los cultivares con la espiga emergiendo en condiciones de sequía no se observaron diferencias significativas; sin embargo, bajo riego el PG de las plantas controles fue mayor que el de las espigas emergiendo (ver Fig. 2. 14; panel derecho, barras negras vs. barras grises dentro de cada panel). Se puede ver que el PG de espigas emergiendo en condiciones de riego y secano fue similar (Fig. 2. 14; panel derecho barras grises). El número de granos por espiga no fue modificado por los tratamientos de sombreado (Fig. 2. 14; panel izquierdo). En la Fig. 2. 15 se puede observar que las diferencias de PG se deben a modificación del peso individual de los granos en mayor medida que a la modificación del número de granos.



**Fig. 2. 14** Número y peso total de granos por espiga de los cultivares BioInta 3000 (superior) y Escudo (inferior) del experimento (III). Panel izquierdo: número de granos por espiga en cada tratamiento. Panel derecho: peso total de granos por espiga en cada tratamiento. Cada valor representa la media  $\pm$  s.e. de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se midieron 7 espigas por tratamiento y se promediaron. Para cada cultivar, las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo al test de LSD. Para más detalles de los tratamientos, ver Fig. 2. 3.



**Fig. 2. 15** Peso individual de granos por espiga de los cultivares Biolnta 3000 (superior) y Escudo (inferior) del experimento (III). Cada valor representa la media  $\pm$  s.e. de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se midieron 7 espigas por tratamiento y se promediaron. Para cada cultivar, las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo al test de LSD. Para más detalles de los tratamientos, ver Fig. 2.

3.

La contribución de la espiga al llenado de los granos del cv. Escudo fue mayor a la del cv. Biolnta 3000, pero solo bajo riego estas diferencias fueron significativas. Resultado similares (*i.e.* mayores contribuciones para el cv. Escudo respecto del cv. Biolnta 3000) se registraron en el experimento I (déficit de fuente impuesto por defoliación) (ver Tabla 2. 3).

**Tabla 2. 3 Contribución de la espiga al llenado de granos de los cultivares BioInta 3000 y Escudo.**

Experimento I: desfoliado, y encapuchado. Experimento III: sombreado con mallas y déficit hídrico. Las medias señaladas por la misma letra significan que no son significativamente diferentes según el test LSD ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento	Contribución de la espiga al llenado de granos (%)	
	cv. BioInta 3000	cv. Escudo
Experimento (I)		
No desfoliado	22,6 a	33,5 b
Desfoliado	42,3 b c	45,2 c
Experimento (III)		
Riego	12,9 a	30,5 b
Secano	22,4 a b	36,3 b

En este experimento también se analizó la disminución del peso del tallo de antesis a madurez, y se calculó la contribución de asimilados pre-antesis del tallo al PG de la espiga. En el cv. Escudo se encontró que la materia seca retranslocada de los tallos fue de 10.9 y 13% en riego y secano respectivamente mientras que en BioInta 3000 estos valores fueron casi del doble, 22 y 27,9%.

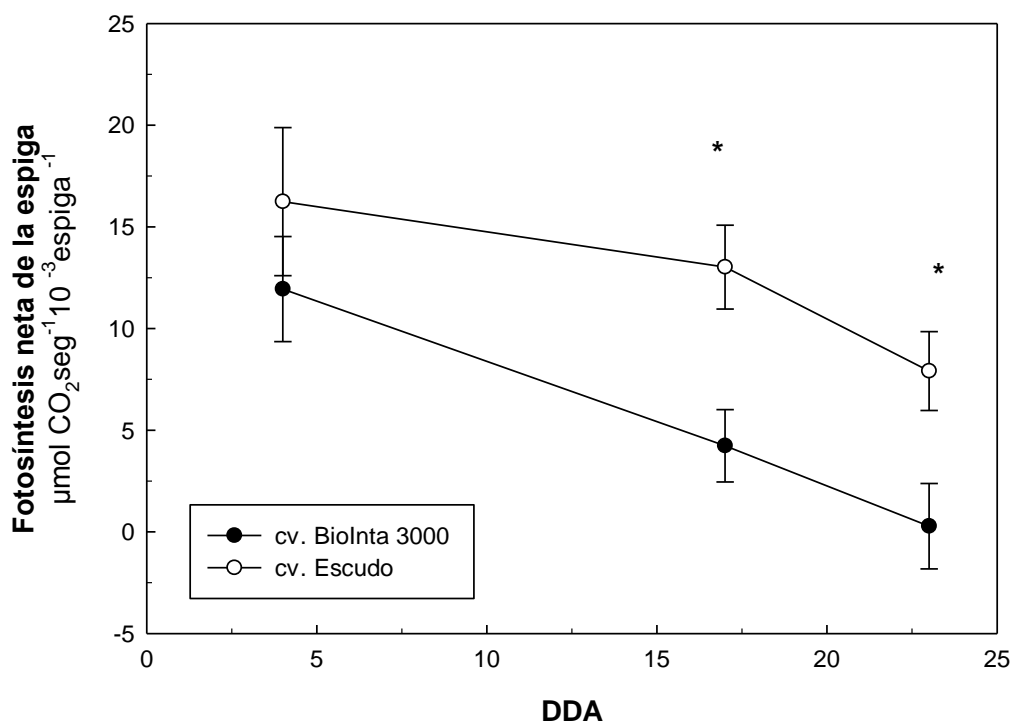
**Tabla 2. 4. Disminución total del peso seco de tallo durante el llenado de granos de los cvs. BioInta**

**3000 y Escudo**, Eficiencia de materia seca translocada ( $DMT_e$ ) y la contribución de asimilados pre-antesis del tallo al rendimiento del grano (CPA). Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes según el test LSD ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento	Reducción del peso seco (mg tallo <sup>-1</sup> )	$DMT_e$ (%)	CPA (%)
<b>cv. BioInta 3000</b>			
Secano	368 b	22,5b	27,9 b
Riego	417 b	25 b	22,2 b
<b>cv. Escudo</b>			
Secano	138 a	15,0 a	13,0 a
Riego	144 a	13,3 a	10,9 a

*Mediciones de la tasa fotosintética*

En un ensayo a campo y en similares condiciones de siembra que en el experimento (III), se realizaron mediciones de fotosíntesis de la espiga a lo largo del llenado de granos de los cvs. Biolnta 3000 y Escudo. En la Fig. 2. 16 se puede ver como la fotosíntesis neta (expresada por órgano) del cv. Escudo fue durante todo el llenado de granos mayor que la de cv. Biolnta 3000. Aunque a 3 DDA las diferencias no fueron significativas, 17 y 24 DDA la fotosíntesis de la espiga del cv. Escudo triplicó a la del cv. Biolnta 3000.



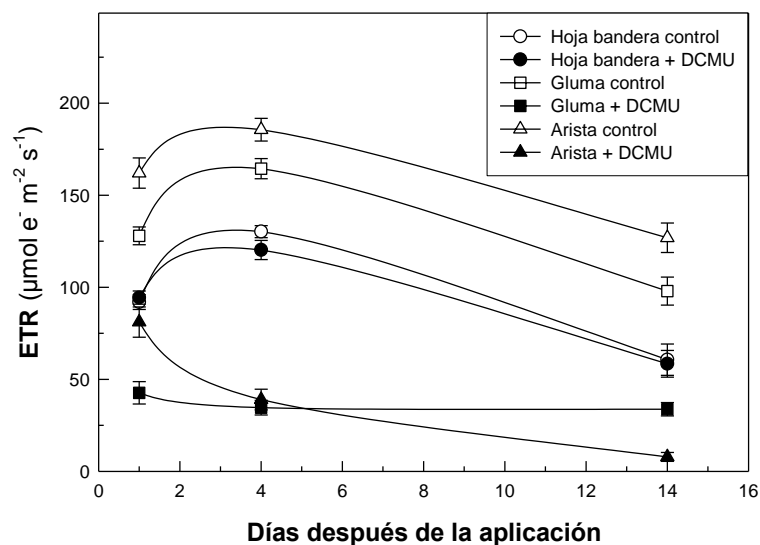
**Fig. 2. 16 Tasa de fotosíntesis neta de la espiga durante el llenado de los granos en los cultivares Biolnta 3000 y Escudo.** Cada valor representa la media de 4 mediciones. Diferencias significativas de acuerdo al test LSD ( $p < 0,05$ ) son indicadas con un asterisco.

#### **2.3.4. Experimento (IV): Cuantificación de la contribución de la fotosíntesis de la espiga mediante inhibición específica del fotosistema II.**

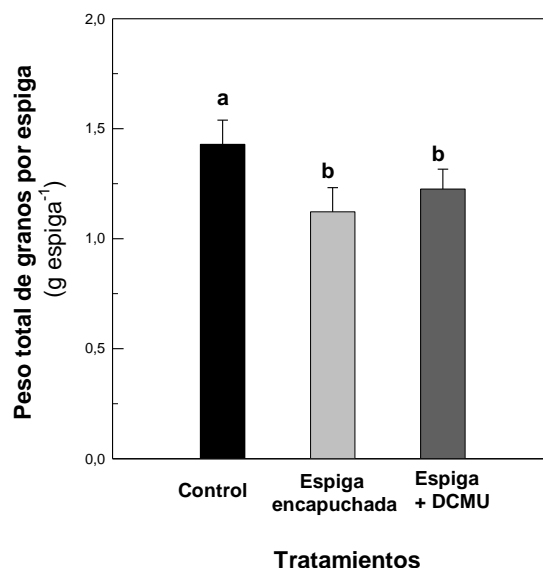
En los experimentos anteriores la reducción del aporte de la espiga se manipuló reduciéndole la irradiancia (PPFD). En la presente aproximación experimental, la reducción del aporte de la espiga se realizó por inhibición de la fotosíntesis de la espiga con un inhibidor específico del fotosistema II.

La tasa de transporte fotosintético de electrones (ETR) de glumas y aristas tratadas con el inhibidor se redujo sensiblemente, mientras que la ETR de la hoja bandera no fue afectada (ver Fig. 2. 17).

En la Fig. 2. 18 se muestra el efecto del inhibidor sobre el peso total de granos por espiga. La reducción del PG cuando se eliminó la fotosíntesis de la espiga mediante esta aproximación fue similar a la del tratamiento de encapuchado con papel aluminio (ver Fig. 2. 18).



**Fig. 2. 17 Inhibición de la fotosíntesis con DCMU en el experimento (IV) (cv. Arriero).** Tasa de transporte de electrones (ETR) de la hoja bandera, glumas ('cuerpo de la espiga') y aristas en espigas control y en espigas tratadas con DCMU. El día 0 se corresponde con el día de la aplicación del DCMU. Las mediciones de ETR se realizaron al mediodía en días soleados con un medidor de fluorescencia modulada de la clorofila (método del pulso saturante). Cada valor es la media de 5 valores. Para más detalles ver Materiales y Métodos.



**Fig. 2. 18. Peso de total granos por espiga en el experimento IV.** Se muestran los valores de peso de granos de espigas control, sombreadas con papel aluminio y de espigas con el tratamiento con DCMU.

## 2.4. *Discusión*

*Contribución de la fotosíntesis de la espiga durante el llenado de grano: su cuantificación a través de diferentes aproximaciones experimentales.*

Existen numerosos trabajos que analizan la fotosíntesis de la espiga, sin embargo su contribución al llenado de granos aún no es clara (ver citas en Tambussi et al. 2007). La principal razón de esto parece residir en la dificultad que se ha encontrado en el diseño de la técnica de cuantificación. El método más usado para calcular la contribución fotosintética de la espiga al llenado de granos, (encapuchado de la espiga, Araus 1993), ha sido criticado ya que se ha especulado que esto podría generar un aumento de la temperatura de la espiga y producir cambios en el peso de granos de las espigas por otros procesos además de la fotosíntesis (ver Tambussi et al. 2007). Como se puede ver en la Fig. 2. 6, (donde se muestra el registro de temperaturas de espigas encapuchadas y no encapuchadas), no se observaron incrementos de temperatura en las espigas encapuchadas respecto de las control, por lo tanto, las diferencias encontradas en el peso de grano de las espigas sombreadas no parecen deberse a cambios artefactuales de la temperatura durante el llenado.

La contribución de la fotosíntesis de la espiga, además de ser analizada mediante el sombreado individual de las espigas, fue analizada mediante el sombreado parcial (*i.e.* con las espigas emergiendo) o total del cultivo mediante mallas. Si bien, en esta última aproximación, la contribución relativa de la espiga al llenado fue menor que cuando se utilizó el sombreado individual por encapuchado, los resultados de las dos aproximaciones fueron consistentes. Es posible que las diferencias encontradas al comparar las dos aproximaciones se deban a que con la utilización de las mallas, la reducción de la fotosíntesis fue parcial. Al no eliminarse completamente la radiación que llegaba al canopeo, el cálculo de la contribución puede ser más bien conservador en este caso (debe recordarse que la transmitancia de las mallas es del 10%, y si consideramos que el PPFD al mediodía puede alcanzar ca.  $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , unos  $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  podrían incidir sobre la hoja bandera como máximo). De todos modos, el cv. K. Escudo mostró nuevamente mayor

contribución de la espiga que el cv. BioInta 3000 (Tabla 2. 3). En forma consistente con los resultados obtenidos con el sombreo de las espigas, la tasa fotosintética (expresada por órgano) de las espigas, medidas por IRGA, fue mayor en el cv. Escudo que en el cv. BioInta 3000 (Fig. 2. 16). Además, la tasa fotosintética parece caer en forma más acentuada en este último cultivar a lo largo del llenado (comparado con el cv Escudo), lo que podría estar relacionado a una senescencia más acentuada en cv, BioInta 3000. Este aspecto es explorado en el capítulo 4.

La aplicación de DCMU, (un inhibidor del fotosistema II) en la espiga, redujo el peso de grano en igual medida que el tratamiento de encapuchado (Fig. 2. 17). Las dos aproximaciones con sombreo (y en particular el encapuchado) dejan la incógnita de que podrían existir efectos fotomorfogénicos sobre los granos y sobre el llenado de los mismos. Sin embargo el empleo de la última aproximación (es decir, la inhibición específica del FSII) refuerza la validez de las otras aproximaciones. Además, en el caso de sombreo con mallas, la espiga no está en condiciones de oscuridad total, sino que recibe radiación solar aunque de valores bajos de PPFD.

Resumiendo, se puede concluir que las diferentes aproximaciones experimentales, (sombreado con papel aluminio, con medias sombras, o la aplicación del inhibidor del FSII), arrojaron estimaciones en el mismo sentido (aunque no idénticas) de la contribución de la espiga.

#### *¿Existe limitación por fuente en los cultivares modernos de trigo?*

Como se mencionó en la Introducción general, la concepción tradicional consideraba la ausencia de limitación por fuente en trigo (Slafer & Savin, 1994; Borrás et al. 2004). Sin embargo, algunos trabajos evidencian que alguna limitación por fuente (o al menos una co-limitación por fuente y destino) estaría surgiendo en los cultivares modernos de trigo, los cuales presentan mayor número de granos y menor tejido vegetativo en el tallo (v.g. Álvaro et al. 2008). Es así que incluso en ausencia de estrés abiótico, la contribución de la espiga podría ser relevante. En nuestro trabajo, la defoliación redujo el PG en un 26% en los 2 cultivares y la disminución del aporte de la espiga produjo la

caída del PG incluso en condiciones sin déficit hídrico (Fig. 2. 11. ver PG de cv. Huenpan Riego: barras negras vs. barras grises). Además, cuando la fotosíntesis de las hojas y de la espiga fueron eliminadas simultáneamente (por desfoliado más encapuchado de la espiga) las reducciones del PG con respecto a las planta control fueron del 57% y 63% en cv. BioInta 3000 y cv. Escudo respectivamente.

La aparente falta de limitación de fuente al llenado de granos de trabajos previos puede deberse en parte a que el rol fotosintético de la espiga no fue considerado (Ahmadi et al. 2009; Kruk et al. 1997). Además, en la interpretación de los tratamientos de manipulación de fuente se deben contemplar los mecanismos compensatorios que pueden ocurrir en los tejidos fotosintéticos que permanecen en la planta. Por ejemplo, existe evidencia que cuando una fuente de asimilados es eliminada, puede darse una compensación por parte de los tejidos remanentes (Chanishvili et al. 2005). En un trabajo reciente donde disminuyeron la fotosíntesis del canopeo (con sombreado por mallas) encontraron que la fotosíntesis de las espigas de plantas con el canopeo sombreado, se incrementa significativamente respecto a la fotosíntesis de las espigas de plantas sin sombrear (Serrago et al. 2012). En otras palabras, dado que la tasa fotosintética se incrementa compensando la disminución del área fotosintética, la disminución en la disponibilidad de asimilados no puede ser predicha únicamente por la reducción del área foliar. Si estas compensaciones existen, significa que nuestras mediciones están quizás subestimando la contribución fotosintética de la espiga, y que los valores reales podrían ser aún mayores.

Debe destacarse que en términos generales, los tratamientos para cuantificar la contribución de la espiga no modificaron el número de granos (v.g. experimento III) o lo hicieron en menor medida (v.g. experimento II) respecto a la reducción del peso total de granos por espiga. Es decir, la disminución del peso total de granos observada con los tratamientos se explica más por la reducción del peso del grano individual que de una mera disminución en el número.

En el presente trabajo, los granos más afectados por la reducción de fuente fueron los de posición distal dentro de la espiguilla (v.g. grano G3, principalmente en los tratamientos de desfoliado más encapuchado de espiga; ver Tabla 2. 2.). Esto es consistente con lo reportado por Sandaña et al. (2007) quienes también observan que en trigo los granos que más se reducen al disminuir la fuente son los de posición distal. La mejora genética del rendimiento ha sido asociada a incrementos del peso de la espiga y del número de granos, fundamentalmente granos de posición distal (Calderini et al. 1999). Futuros aumentos del rendimiento deberían ser acompañados por un incremento de la actividad fotosintética, incluyendo la asimilación por las partes verdes de la espiga. Por ejemplo líneas multi-ováricas con más granos por planta (Monneveux et al. 2005), las cuales no presentan mayores rendimientos, sugieren la existencia de cierta limitación por la disponibilidad de asimilados (Reynolds et al. 2005). De existir limitación por fuente, un mayor número de granos o un mayor tamaño potencial, podría no conducir a un incremento del rendimiento si no es acompañado de mayor disponibilidad de asimilados durante el llenado. En este contexto, la fotosíntesis de las partes verdes de la espiga podría jugar un papel importante.

Los granos apicales son los últimos en desarrollarse, dentro de la espiguilla dominan las dos flores basales por vascularización y por ontogenia (Mary Louise Flint. 1990). Por lo tanto, la reducción del peso de los granos más apicales puede deberse en parte a que una reducción de fuente de asimilados en momentos en que aún estaban en la etapa de divisiones celulares afectó su peso potencial. No podemos descartar que al aplicar los tratamientos de sombreado 7 DDA puede haberse afectado el tamaño potencial de los granos apicales. En un trabajo de Wardlaw (1970) a bajas irradiancias (17,5% de la luz solar) en los 10 DDA reducen las divisiones celulares de las células del endosperma, reduciendo con esto el peso potencial de los granos. Menor tamaño potencial hace a los granos menos competitivos frente a los asimilados que el resto de los granos. De todos modos suponiendo que con los tratamientos se modifica el peso potencial de los granos apicales o el número, es de esperar (si estas reducciones son lo suficientemente chicas como para no modificar la fuente de asimilados), que los asimilados no utilizados por estos

granos queden disponibles para ser utilizados por el resto de los granos. Por esto al utilizar como indicador al peso total de granos por espiga se contemplan estas cuestiones.

#### *Remobilización en el tallo y fotosíntesis de la espiga*

La remobilización de asimilados almacenados en el tallo pre- anthesis es una importante fuente de asimilados durante el llenado de granos cuando la fotosíntesis está reducida. Se ha estimado que la contribución de los asimilados del tallo está entre el 10 y el 50% del peso de granos, dependiendo del genotipo y de las condiciones hídricas (Blum 1998; Plaut et al. 2004; Ehdaie et al. 2006; Ehdaie et al. 2008). En nuestro trabajo el peso de granos fue parcialmente mantenido, incluso cuando la fuente de asimilados fue severamente reducida. Por ejemplo, en tratamientos de desfoliado + espigas encapuchadas y sombreado total con medias sombras (ver Fig. 2. 8 y Fig. 2. 14). Este hecho, remarca la importancia de la remobilización de asimilados almacenados en el tallo. En el presente trabajo se midió la disminución del peso del tallo entre anthesis y madurez y este cambio de peso es considerado como un buen estimador de la cantidad de carbohidratos retranslocados durante el llenado de granos (Ehdaie et al. 2008). Según otros estudios, la tasa respiratoria parece ser baja comparada con los valores de remobilización (Cruz-Aguado et al. 2000). La eficiencia de materia seca translocada ( $DMT_e$ ) y la contribución de asimilados pre-anthesis (CPA) fue mayor en el cv. BioInta 3000 que en Escudo (o sea, en un sentido opuesto a las diferentes contribuciones de la espiga entre ambos cultivares). Aparentemente estos dos cultivares podrían tener diferentes estrategias durante el llenado de granos, ya que el cv. BioInta 3000 mostró una menor contribución de la espiga y una mayor contribución de retranslocados del tallo, mientras que en el cv. Escudo se observa lo opuesto (ver Tabla 2. 4). Son necesarias más investigaciones para testear si esta asociación es meramente coincidental solo en este par de cultivares o si realmente existe una correlación negativa entre la contribución de la espiga y el aporte de asimilados del tallo. Esto es explorado en detalle en el capítulo 3.

En nuestro trabajo, los mg de materia seca retranslocada (ver Tabla 2. 4) fueron calculados como la diferencia de peso de tallo (más vainas) entre anthesis y madurez fisiológica. Al no realizarse una medición durante el llenado, no se puede descartar la posibilidad que en anthesis no se hayan alcanzado los valores máximos de peso de tallo; esto produciría una subestimación de la materia retranslocada. Sin embargo se destaca que los valores registrados en nuestros experimentos, están dentro del rango de los valores citados en trabajos anteriores. En Blum (1998) se citan valores de entre 50 y 350 gr Kg<sup>-1</sup> de tallo, lo cual está en el rango de nuestras mediciones. Si bien existe algún trabajo donde la masa retranslocada es algo mayor (por ej. en trigo duro Álvaro del 2008, registraron una variación del peso de tallo de 362 mg), nuestro datos parecen ser similares a otros reportes. Por ejemplo, en el trabajo de Ahmadi et al. (2009), donde analizan las modificación del rendimiento frente a tratamientos de déficit hídrico y desfoliado, los valores de removilización del tallo (ca. 125 mg por tallo) son similares a los mínimos registrados en esta tesis. En nuestro experimento el cv. Escudo fue el que presentó los valores más bajos de retranslocados, siendo de 138 y 144 mg por tallo para los tratamientos de secano y riego respectivamente (para el cv. BioInta 3000 fueron de 368 y 417 mg por tallo para secano y riego respectivamente).

#### *Contribución de la espiga bajo sequía*

Comparada con la hoja bandera, la fotosíntesis de la espiga de trigo se reduce menos (comparada con la hoja bandera) bajo estrés, lo cual ha sido observado en trigo pan (Martínez et al. 2003) y en trigo duro (Tambussi et al. 2005). Según este último trabajo, las partes de la espiga poseen mayor capacidad de ajuste osmótico (glumas, lemmas y aristas; Tambussi et al. 2005) y mantienen un consecuente mayor contenido relativo de agua (RWC o CRA), lo que contribuye al mantenimiento de la actividad fotosintética en partes de la espiga de plantas estresadas (Wardlaw 2002; Tambussi et al. 2005; Tambussi et al. 2007). Como ya se mencionó anteriormente, algunos órganos internos de la espiga (principalmente lemmas) más el tejido verde de los granos (pericarpio) son capaces de refijar el CO<sub>2</sub> respirado por los granos en crecimiento (Kriedemann 1966; Bort et al. 1996; Gebbing & Schnyder, 2001).

La refijación es probablemente independiente del CO<sub>2</sub> externo (al tener una fuente de CO<sub>2</sub> interno, por lo que es menos afectada por déficit hídrico ambiental y del concomitante cierre estomático. La degradación de los componentes de los cloroplastos y la disminución de la actividad fotosintética están retrasados en la espiga, comparado con la hoja bandera (Martínez et al. 2003). Es decir, podría afirmarse que la espiga tiene características '*stay green*' (es decir que presentan senescencia demorada) que le permiten continuar fotosintetizando durante el llenado de granos. Debe recordarse que la espiga es el órgano que se expande más tardíamente en la ontogenia de la planta, por lo que después de los granos es el órgano más joven de la planta.

El experimento de estrés hídrico fue llevado a cabo en una región de la pampa sub-húmeda, donde el déficit hídrico post-antesis es frecuente ([www.smn.gov.ar](http://www.smn.gov.ar) Fig. 2. 1, experimento (II) en Bordenave 2007). La contribución de la espiga fue significativa en cv. Huenpan (cultivar con aristas largas) pero no en cv. Premiun 11 (aristas cortas). El estrés hídrico (presuntamente impuesto en el tratamiento de secano) redujo el peso de granos en cv. Premiun 11 pero no en cv. Huenpan, sugiriendo que la mayor contribución de la espiga en cv. Huenpan podría estar compensando la reducción de asimilados exacerbada por el estrés. Además como se mencionó arriba, nuestros datos muestran que incluso bajo condiciones "no estresantes" la contribución de la espiga podría ser importante en el llenado de granos (Fig. 2. 11. ver PG de cv. Huenpan Riego: barra color negro vs. barra color gris). En ese mismo gráfico se puede ver también que el cultivar cv. Huenpan presentó una mayor tolerancia al déficit hídrico, expresada a nivel del peso de grano, incluso cuando el aporte de las espigas fue reducido por el tratamiento de encapuchado. Esto se visualiza al comparar el PG de los tratamientos con espigas encapuchadas de parcelas bajo riego vs. parcelas bajo secano (Fig. 2. 11. ver PG de cv. Huenpan barras grises). Posiblemente las hojas compensaron la reducción del aporte de la espiga, de lo contrario se hubiera observado una reducción del PG en las plantas del cv. Huenpan con espigas encapuchadas en secano. Se debe mencionar que los dos cultivares presentan diferente potencial de demanda (número de destinos), el cv. Premiun 11 alcanzó mayor número de grano por espiga que el cv. Huenpan. En trabajos

futuros habría que analizar biomasa total y disminución biomasa de tallos para analizar si estos dos cultivares tienen diferente relación fuente-destino.

### *El rol de las aristas durante el llenado de granos*

Las aristas son el principal órgano de fijación de C atmosférico (Thorne 1965; Blum 1985<sup>a</sup>; Ziegler-Jöns 1989), sin embargo su rol aún es controversial (Tambussi et al. 2007). La presencia de aristas tiene un efecto no del todo claro sobre el rendimiento, ya que evidencias existen en uno u otro sentido (*i.e.* efectos positivos, neutros o negativos sobre el rendimiento). Como se analiza más en detalle en el capítulo 4, incluso se han reportado efectos deletéreos de la presencia de aristas en el rendimiento. Existen trabajos que relacionan el mayor tamaño de aristas con menor número de granos fijados, dado el efecto de competencia por los asimilados durante la etapa de formación de los granos y el crecimiento de las aristas (Teich 1982). Consistentemente, en todas las aproximaciones abordadas observamos que la mayor contribución de la espiga se encuentra en los cultivares con mayor tamaño de aristas. La remoción de las aristas causó la mayor disminución del peso de granos en los cultivares con mayor PF de aristas por espiguilla. Esto es consistente con la idea de que aristas mayores tienen un efecto positivo sobre el llenado de granos, aunque como dijimos antes, las relaciones mecánicas (causa-efecto) entre ambos atributos (*i.e.* largo de aristas y contribución al llenado) no son dilucidadas con estos experimentos.

En el cultivar de aristas menores (*i.e.* BioInta 3000), a pesar de que la remoción de las aristas tuvo poco efecto sobre el peso de granos, se puede ver que la contribución del cuerpo de la espiga (pericarpio de los granos, glumas y lemmas sin las aristas) es importante (ver Fig. 2. 8 y Tabla 2. 3).

En el cuerpo de la espiga hay refijación (*i.e.* re-asimilación) del CO<sub>2</sub> liberado por la respiración de tejidos heterótrofos (v.g. granos en crecimiento), Al parecer, las brácteas (glumas y lemmas) asimilan tanto CO<sub>2</sub> atmosférico como liberado por la misma espiga (Gebbing & Schnyder 2001). Estos autores muestran que aproximadamente el 70% de la acumulación de sacarosa en las brácteas proviene del CO<sub>2</sub> respirado. Por lo tanto, las diferencias en la

contribución de la fotosíntesis de la espiga de los distintos cultivares no puede ser atribuida únicamente a la fotosíntesis de las aristas, ya que diferencias en la tasa de refijación (la cual ocurriría presuntamente en el cuerpo de la espiga; Tambussi et al. 2007) también podrían estar involucradas. Se requieren más investigaciones para dilucidar esto

*Otras ventajas de la fotosíntesis de la espiga respecto a otros órganos fotosintéticos....*

Además de las características ya mencionadas en esta sección la espiga presenta otras ventajas, comparada con la hoja bandera: su ubicación próxima a los destinos; la posición erecta sobre el cultivo y la particularidad de estar compuesta por varios órganos fotosintéticos de características distintas.

Respecto de su posición próxima a los destinos, podemos mencionar que la hoja bandera envía a los granos el 49% del carbono que asimila mientras que la espiga el 80% (Carr & Wardlaw 1965). La hoja bandera además de mandar asimilados a los granos, también envía a otras partes de la planta (v.g. raíces) (Carr & Wardlaw 1965).

Además, la posición erecta las espigas puede ser ventajosa en dos sentidos: por un lado relevando a la hoja bandera en horas del día cuando el ángulo solar es bajo (por la mañana y por la tarde) y previniendo la fotoinhibición al mediodía dada su posición vertical.

## **Conclusiones**

En resumen, la fotosíntesis de la espiga constituye una fuente importante para el llenado de granos en trigo pan, que varía entre 13 y 33% del peso de granos en ausencia de estrés y entre 22 y 45% bajo limitación de fuente (e.g. desfoliado, déficit hídrico).

Se constató que la técnica de encapuchado con papel aluminio no genera aumentos de la temperatura y se validó la estimación mediante el cálculo con otras aproximaciones (sombreo con mallas e inhibición del fotosistema II).

Aparentemente un mayor tamaño de aristas se relaciona con mayores contribuciones de la espiga, aunque esto puede ser una mera asociación y será analizado más en detalle en capítulos subsiguientes.

## **Bibliografía**

- Abbad, H. et al., 2004. Comparison of flag leaf and ear photosynthesis with biomass and grain yield of durum wheat under various water conditions and genotypes. , 24, pp.19–28.
- Ahmadi, A., Joudi, M. & Janmohammadi, M., 2009. Late defoliation and wheat yield: Little evidence of post-anthesis source limitation. *Field Crops Research*, 113(1), pp.90–93. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429009001014> [Accessed September 13, 2012].
- Araus, J. L. et al., 1993. Ear photosynthesis , carbon isotope discrimination and the contribution of respiratory CO<sub>2</sub> to differences in grain mass in durum wheat. *Plant, Cell and Environme*, 16, pp.383–392.
- Araus, J. L. et al., 2002. Plant Breeding and Drought in C 3 Cereals : What Should We Breed For ? *Annals of botany*, 89, pp.925–940.
- Araus, José L., Reynolds, Matthew P. & Acevedo, E., 1993. Leaf posture, grain yield, growth, leaf structure, and carbon isotope discrimination in wheat.pdf. , pp.1273–1279.
- Blum, A., 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica*, 100(1998), pp.77–83.
- Blum, A., 1985a. Photosynthesis and Transpiration in Leaves and Ears of Wheat and Barley Varieties. *Journal of Experimental Botany*, 36(3), pp.9–10.
- Blum, A., 1985b. The Effect of Heat Stress on Wheat Leaf and Ear Photosynthesis 1. *Journal of Experimental Botany*.
- Borrás, L., Slafer, G. a & Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research*, 86(2-3), pp.131–146. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429003001849> [Accessed August 30, 2012].
- Bort, Jordi et al., 1996. Refixation of respiratory C<sub>0</sub> 2 in the ears of C 3 cereals. , 47(303), pp.1567–1575.
- Cruz-aguado, J.A. et al., 2000. Morphological characteristics and yield components associated with accumulation and loss of dry mass in the internodes of wheat. , 66.
- Ehdaie, B. et al., 2006. Genotypic Variation for Stem Reserves and Mobilization in Wheat: II. Postanthesis Changes in internode Water-soluble Carbohydrates. *Crop Science*, 46(5), p.2093. Available at:

<https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/46/5/2093> [Accessed October 9, 2012].

- Fernández, M.E. & Gyenge, J.E., 2010. *Técnicas de Medición en Ecofisiología Vegetal*,
- Fischer, R.A. & HilleRisLambers, D., 1978. Fischer 1978 Effect of environment and cultivar on source limitation to grain weight in wheat .pdf. , pp.443–458.
- Kruk, B.C., Calderini, D.F. & Slafer G. A., 1997. Grain weight in wheat cultivars released from 1920 to 1990 as affected by post-anthesis defoliation.pdf. *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE*, 128, pp.273–281.
- Maxwell, K. & Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. , 51(345), pp.659–668.
- Plaut, Z. et al., 2004. Transport of dry matter into developing wheat kernels and its contribution to grain yield under post-anthesis water deficit and elevated temperature. *Field Crops Research*, 86(2-3), pp.185–198. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429003001898> [Accessed July 16, 2012].
- Reynolds, M P, Pellegrineschi, a & Skovmand, B., 2005. Sink-limitation to yield and biomass: a summary of some investigations in spring wheat. *Annals of Applied Biology*, 146(1), pp.39–49. Available at: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7348.2005.03100.x> [Accessed September 23, 2012].
- Serrago, R. a. et al., 2011. Grain weight response to foliar diseases control in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 120(3), pp.352–359. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037842901000287X> [Accessed September 13, 2012].
- Tambussi, E. a, Nogués, S. & Araus, José Luis, 2005. Ear of durum wheat under water stress: water relations and photosynthetic metabolism. *Planta*, 221(3), pp.446–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15645303> [Accessed November 2, 2012].
- Tambussi, E.A., Bort, J. & Araus, J.L., 2007. Water use efficiency in C 3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Annals of Applied Biology*, 150(3), pp.307–321. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.2007.00143.x> [Accessed August 17, 2012].
- Wardlaw I F, 1970. THE EARLY STAGES OF GRAIN DEVELOPMENT IN WHEAT : RESPONSE TO LIGHT AND TEMPERATURE IN , A SINGLE VARIETY. *Australian Journal of Sci.*, 23(Hoshikawa 1961), pp.18–20.

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

Álvaro, F. et al., 2008. Old and modern durum wheat varieties from Italy and Spain differ in main spike components. *Field Crops Research*, 106(1), pp.86–93. Available at:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429007002304> [Accessed September 13, 2012].

Mary Louise Flint. 1990 Growth and developed of small grains en “Integrated Pest Management For Small Grains“. U.C.A.N.R. Publications 3333.

# Capítulo 3

Contribución de la Espiga  
al Llenado de Granos en  
Cultivares Antiguos y  
Modernos de Trigo

## **La contribución de la espiga al llenado de granos en cultivares antiguos y modernos de trigo: evidencias de mejora en el siglo pasado**

### **3.1. Introducción**

Los asimilados almacenados en el tallo en pre-antesis son una fuente importante de carbohidratos durante el llenado de granos (Álvaro et al. 2008; Blum 1998; Foulkes et al. 2007; Ehdaie et al. 2006), fundamentalmente cuando la producción de asimilados provenientes de la fotosíntesis es afectada por sequía (Rawson & Evans 1971). En condiciones no estresantes, los fotoasimilados (en particular fructanos) almacenados en el tallo pueden contribuir entre un 5 y un 20% al rendimiento durante el llenado de granos (Borrel et al. 1993). Cuando la fotosíntesis es deprimida por estrés hídrico o térmico, la removilización de reservas del tallo pasa a contribuir entre el 22 y el 60% de la materia seca que se acumula en granos (Blum et al. 1994; Blum 1998).

Como se mencionó anteriormente, con la introducción de los alelos de enanismo (*i.e.* Rht) durante la llamada 'revolución verde', se ha reducido la biomasa de los tallos, y con esto la capacidad de almacenar asimilados de la planta (Flintham et al. 2000; Álvaro et al. 2008a). De esta manera se redujeron las pérdidas de rendimiento al disminuir el vuelco de las plantas (Berry et al. 2007) y se incrementó el rendimiento potencial, principalmente debido al aumento del número de granos por unidad de área (Miralles & Slafer 1996; Royo et al. 2007). Sin embargo, esta reducción en biomasa de tallo y aumento en el número de granos podría tener penalidades, principalmente en condiciones de estrés hídrico y térmico. La capacidad de almacenar asimilados por un tallo está dada por su longitud y por su peso específico (peso de tallo/longitud de tallo). Los alelos de enanismo Rht-B1b y Rht-D1b (previamente conocidos como Rht1 y Rht2 respectivamente), reducen en un 35 y 39% las reservas almacenadas respectivamente, como consecuencia de la reducción del 21% de la longitud del tallo (Borrel et al. 1993). En ambientes de bajos

rendimientos el efecto de los alelos de enanismo parece ser nulo o incluso negativo sobre la producción de granos (Chapman et al. 2007; Mathews et al. 2006).

Tal como se mencionó anteriormente (Capítulo 2), investigaciones recientes evidencian que alguna limitación por fuente podría estar emergiendo en cultivares modernos de *T. turgidum var. durum* (Álvaro et al. 2008b). Este grupo de investigadores, manipuló la relación fuente-destino y encontró que en los tratamientos de reducción de destino (remoción de espiguillas), el peso de grano de los cultivares modernos se incrementó en un 15%. Además, reportaron que los cultivares modernos presentaban mayor sensibilidad a la modificación de la relación fuente-destino que los cultivares antiguos. Entonces, si bien en otros estudios los cultivares antiguos de trigo eran poco afectadas por tratamientos de defoliación post-antesis (Kruk et al. 1997), los cultivares modernos parecen responder en mayor medida a las limitaciones por fuente (Álvaro et al. 2008b).

En este contexto, donde la mejora genética redujo la biomasa del tallo (y la posiblemente la removilización de los asimilados acumulados en pre-antesis) es relevante analizar si la contribución de la fotosíntesis de la espiga, se ha modificado compensando esta reducción.

#### *Objetivos e hipótesis*

El objetivo central de esta parte de la Tesis es analizar si la contribución de la fotosíntesis de la espiga de trigo pan al llenado de granos ha sufrido modificaciones concomitantes a la reducción de biomasa de tallo (por vástago) dada por la presencia de alelos de enanismo en una serie histórica de cultivares de Argentina y en 3 líneas cuasi isogénicas con presencia/ausencia de los alelos.

La hipótesis subyacente es que durante el proceso de mejora genética del trigo se incrementó la contribución de fotosíntesis de la espiga, que acompañó (compensando) la disminución de fuente debida a la reducción de materia seca retranslocable en los tallos.

Esto se analiza mediante dos aproximaciones: (1) análisis retrospectivo de la contribución de la espiga y (2) análisis de la presencia/ausencia de alelos de enanismo sobre el mismo fondo (*'background'*) génico.

Para cumplir con el objetivo descripto se realizaron 2 experimentos:

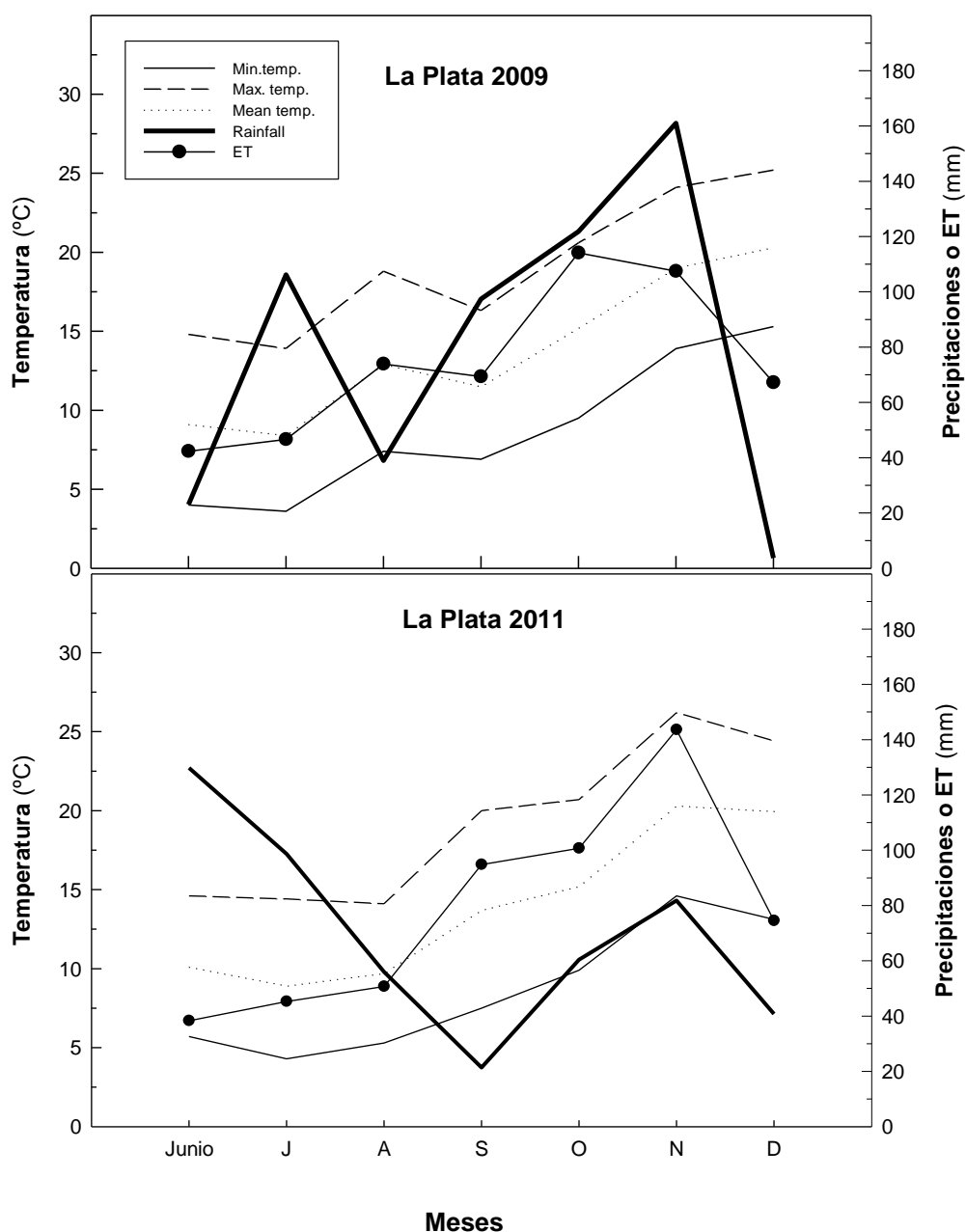
- Experimento (V): Estudio retrospectivo de la contribución relativa de la espiga de cultivares liberados al mercado en Argentina entre 1920 y 2008.
- Experimento (VI): Estudio de la contribución de la espiga en líneas isogénicas con presencia/ausencia de alelos de enanismo.

## **3.2. Materiales y métodos**

### **3.2.1. Experimento (V): Estudio retrospectivo de la contribución relativa de la espiga de cultivares liberados al mercado en Argentina entre 1920 y 2008**

#### ***Material vegetal:***

Para este análisis se utilizaron 10 cultivares de *Triticum aestivum* L. liberados al mercado entre 1920 y 2008, obtenidos de los bancos de germoplasma de Criadero Klein S. A. (K.) y de Buck Semillas S. A. (B.). Los cultivares utilizados fueron: K. Favorito (1920), K. 32 (1932), K. Cometa (1942), K. Orgullo (1944), K. Rendidor (1954), K. Toledo (1969), K. Chamaco (1979), B. Pucara (1980), K. Cacique (1992), y B. Taita (2008). Esta serie histórica incluye cultivares liberados antes y después de la introducción en Argentina de germoplasma mexicano con alelos de enanismo.



**Fig. 3. 1 Información meteorológica de los experimentos (V) y (VI).** Se muestran datos de precipitaciones, evapotranspiración potencial (ET) y temperaturas media, máxima y mínima durante los meses del curso de los experimentos. **Panel superior:** Experimento (V): (La Plata 2009) Estudio retrospectivo de la contribución de la espiga. **Panel inferior:** Experimento (VI): (La Plata 2011) Estudio de la contribución de la espiga en iso-líneas con presencia/ausencia de los alelos de enanismo.

### **Condiciones de cultivo:**

Durante el 2008 se multiplicaron las semillas en condiciones semi-controladas (invernadero), del Instituto de Fisiología Vegetal en La Plata (INFIVE CONICET-UNLP), para alcanzar un número suficiente de semillas que permitiera la realización de ensayos a campo. Los diez cultivares se sembraron en macetas de 5 l. con mezcla de tierra, buena disponibilidad hídrica y fertilización adecuada. Las semillas se cosecharon a madurez.

El ensayo a campo se sembró el día 7 de julio del 2009 en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>1</sup> (UNLP), en parcelas de 1.2 x 3.4 m, (5 surcos, 20 cm. entre surcos) en bloques aleatorizados con tres repeticiones. El suelo es un argiudol típico (USDA).

La densidad de plantas fue de ca. 250 plantas por m<sup>-2</sup>. Se fertilizó con fosfato diamónico 100 kg ha<sup>-1</sup>, inmediatamente después de la siembra y con urea 250 kg ha<sup>-1</sup>, en macollaje (GS20, Zadoks & Board 1974). La emergencia fue el 22 de julio. Las plagas fueron controladas por aplicación de los correspondientes biocidas según lo recomendado.

Las condiciones meteorológicas durante los meses del cultivo se pueden ver en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** (panel superior: La Plata 2009). Las precipitaciones desde la siembra a cosecha fueron altas (> 400 mm) y durante el llenado de granos las temperaturas fueron moderadas (media de 16°C aproximadamente), desde noviembre a mediados de diciembre.

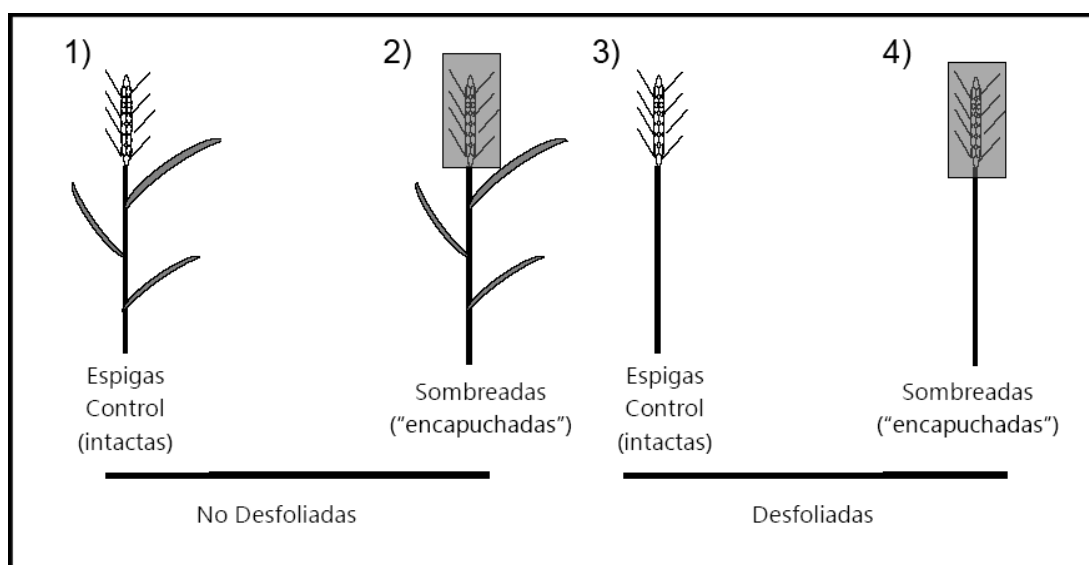
### **Tratamientos**

10 DDA (GS69, Zadoks & Board 1974) en cada parcela se incluyeron los 4 tratamientos que se ilustran en la Fig. 3. 2 y que consistieron en: (1) plantas no desfoliadas y espigas intactas, (2) plantas no desfoliadas, con espigas sombreadas; y tratamientos (3) y (4) plantas desfoliadas con espigas intactas y sombreadas respectivamente. Con el fin de minimizar el efecto

---

<sup>1</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

borde, todos los tratamientos se impusieron usando solamente los tres surcos centrales de las parcelas. Los tratamientos de desfoliado se realizaron en todos los vástagos ubicados a lo largo de 1 m de longitud sobre la hilera, eliminando todas las hojas verdes. El sombreado de espigas se realizó con la misma técnica que en los experimentos (I) y (II) descritos en el capítulo 2, es decir encapuchado con papel de aluminio con 10 perforaciones (diámetro aproximado de 5 mm) para permitir el flujo de aire y evitar la acumulación de gases (v.g. etileno) y el aumento de la temperatura.



**Fig. 3. 2 Diagrama mostrando los 4 tratamientos de los experimentos (V) y (VI):** Tratamientos (1) y (2) plantas no desfoliadas con espigas control y sombreadas respectivamente y (3) y (4) plantas desfoliadas con espigas control y sombreadas respectivamente. Para más detalles ver Materiales y métodos.

### **Muestras y mediciones**

En antesis (GS69, Zadoks & Board 1974) se muestrearon 10 macollos principales y se analizó el peso seco y longitud del tallo, diferenciando los entre-nudos. Se denominó entrenudo 1 al que se corresponde con el pedúnculo de la espiga, 2 al próximo y así sucesivamente en sentido basípeto. La altura de la planta se midió desde la base del tallo a nivel del suelo hasta la espiguilla terminal. También se midió el peso seco (PS) de la espiga, peso fresco (PF) de aristas por espiguilla, longitud de 4 aristas de espiguillas centrales y longitud del cuerpo de la espiga.

### *Cuantificación de la contribución de la espiga y análisis de retranslocados*

Posteriormente a la madurez fisiológica (GS89, Zadoks & Board, 1974) se analizó el peso y número de granos de 7 espigas de cada uno de los tratamientos y se midió el peso medio de granos individuales de posiciones específicas dentro de la espiguillas (basales, centrales y apicales), (G1-G3 desde grano proximal al distal dentro de la espiguilla) (denominados como en Kruk et al. 1997).

Para analizar la contribución fotosintética relativa de la espiga, se comparó el peso de granos total de espigas control *versus* el de espigas con la fotosíntesis reducida por sombreado según la siguiente expresión:

$$= \left[ \frac{(PG_{\text{espigasno sombreadas}} - PG_{\text{espigassombreadas}}) \times 100}{PG_{\text{espigasno sombreadas}}} \right]$$

donde PG es el peso total de granos por espigas.

### *Análisis de retranslocados del tallo*

En antesis (GS69), y a madurez fisiológica (GS89; Zadoks & Board, 1974) se cosecharon 10 vástagos principales y se determinó el peso seco del tallo diferenciando entrenudos (a 60°C hasta alcanzar un peso constante). Se denominó como entrenudo 1 al que incluye al pedúnculo de la espiga, entrenudo 2 al inferior y así sucesivamente en sentido basípeto. Se calculó la materia seca almacenada y translocada (DMT) como la pérdida de peso del tallo (incluyendo la vaina de las hojas) entre antesis y madurez. La eficiencia de materia seca translocada ( $DMT_e$ ) y la contribución del tallo de asimilados preantesis (CPA) se calculó como en Álvaro et al. (2008).

$$CPA = \left( \frac{DMT}{PG_{espiga}} \right) \times 100$$

$$DMT_e = \left( \frac{DMT}{DM_{antesis}} \right) \times 100$$

Donde  $DM_{antesis}$  es el peso de tallo en antesis y  $PG_{espiga}$  es el peso total de granos por espiga.

En algunos cultivares de trigo se ha observado que la acumulación de asimilados en el tallo (y por ende el incremento de peso del mismo) continúa durante los primeros días de llenado de granos (Ehdaie et al. 2006), por lo que realizamos otra medición del peso seco del tallo 10 días después del primer muestreo. Para los cálculos de DMT se utilizó el máximo valor de peso seco alcanzado por el tallo (ya sea de antesis o de 10DDA). En nuestro caso, solo dos de los cultivares que utilizamos continuaron incrementando el peso de tallo luego de antesis. Aunque aquí se utiliza el término ‘asimilados acumulados en pre-antesis’, debe aclararse que este parámetro puede incluir la removilización de asimilados depositados en los primeros días de post-antesis.

### **3.2.2. Experimento (VI): Estudio de la contribución de la espiga en líneas isogénicas con presencia/ausencia de alelos de enanismo.**

#### **Material vegetal**

Se utilizó germoplasma de 3 líneas isogénicas con presencia/ausencia de los alelos de enanismo en los locus Rht-B1b (referido como Rht1) y Rht-D1b (denominado como Rht2) sobre el fondo génico del cultivar brasileño Maringa. Estas líneas presentan un 99% de homocigocis en el locus Rht (Miralles y Slafer 1996), e incluyen el genotipo referido como 'alto' (rht1 rht1 rht2 rht2; es decir sin alelos de enanismo), el genotipo semienano (Rht1 Rht1 rht2 rht2, *i.e.* alelos de enanismo en un locus) referido como 'Rht1' y el genotipo enano (Rht1 Rht1 Rht2 Rht2; alelos de enanismo en ambos locus) referido como 'Rht1+2'. La presencia de estos alelos confiere insensibilidad a giberelinas reduciendo el alargamiento celular y disminuyendo la altura de la planta (Peng et al. 1999). Estas líneas fueron producidas por el Dr. M. D. Gale (Plant Breeding Institute, Cambridge) a través de cruzamientos de líneas del CIMMYT que llevaban los alelos de enanismo, hasta producir isolíneas Rht y rht del cultivar Maringa. Las líneas fueron cedidas por la Dra. Gabriela Tranquilli, Instituto de Recursos Biológicos, INTA.

#### **Condiciones de cultivo y diseño experimental**

La siembra a campo se realizó el día 1 de julio del 2011, en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>2</sup> (UNLP) en parcelas de 1.2 x 3.4 m (5 surcos, 20 cm entre surcos), en bloques aleatorizados con tres repeticiones. La densidad de plantas fue de ca. 250 plantas por m<sup>2</sup>. Se fertilizó con fosfato diamónico 100 kg ha<sup>-1</sup>, inmediatamente después de la siembra y con urea 250 kg ha<sup>-1</sup>, 75 días después de la siembra. Las condiciones climáticas se pueden ver en la Fig. 3. 1 (panel inferior: La Plata

---

<sup>2</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

2011). La temperatura media durante el periodo de llenado fue de 20°C (noviembre y primera mitad de diciembre), desde la siembra a la cosecha las precipitaciones fueron de 350 mm.

A los 10 DDA se aplicaron los 4 tratamientos de desfoliado y sombreado de espigas en forma similar al experimento (V) (ver pág. 88). Los tratamientos (1) y (2) corresponden a plantas sin desfoliar con espigas intactas y espigas sombreadas respectivamente. Los tratamientos (3) y (4) consistieron en plantas desfoliadas con espigas intactas y sombreadas respectivamente (ver Fig. 3. 2).

A madurez se analizó peso y número de granos de los diferentes tratamientos y se estimó la contribución fotosintética de la espiga en forma idéntica al experimento V.

### **Análisis estadístico**

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el Statistica 7 software (StartSoft, Inc). Las diferencias fueron analizadas por ANOVA y las comparaciones de medias se realizaron por el test LSD ( $p < 0,005$ ).

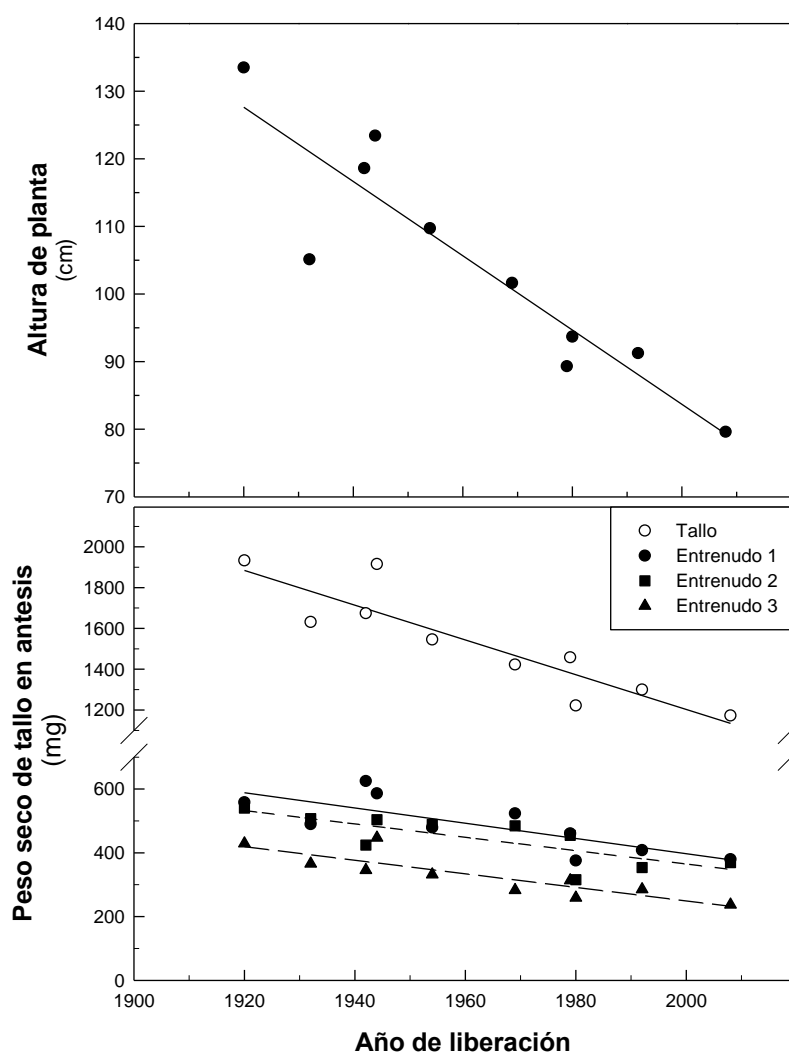
### **3.3. Resultados**

#### **3.3.1. Experimento (V): Estudio retrospectivo de la contribución relativa de la espiga de cultivares liberados al mercado en Argentina entre 1920 y 2008**

La altura de las plantas así como el peso de los tallos de los cultivares analizados disminuye linealmente con el año de liberación. La reducción parece ser gradual y no se observa una caída abrupta en ninguno de los parámetros (tal como cabría esperar, coincidente con incorporación de los alelos de enanismo en la década del 60'). De hecho se observa una disminución lineal de la altura de los tallos ( $r^2=0,83$ ) desde los cultivares más antiguos a los más modernos, de aproximadamente  $0,55 \text{ cm año}^{-1}$  y una reducción del peso seco de ca.  $8,5 \text{ mg año}^{-1}$  ( $r^2=0,82$ ). Como se puede ver en la Fig. 3. 3, aparentemente todos los entrenudos del tallo se redujeron de forma similar respecto a la disminución de altura.

Observamos que con la mejora genética, el peso de granos por espiga aumentó, con el número de granos por espiga, mientras que el peso individual de granos disminuyó (Tabla 3. 1). Consistentemente con la bibliografía (v.g. Royo et al. 2007), el aumento del peso total de granos por espiga, se debe a un aumento del número de granos por espiguilla más que al aumento de espiguillas por espigas o al aumento del peso individual de los granos.

Se puede ver que si bien no encontramos una correlación significativa entre el año de liberación y el tamaño de la aristas, los cultivares modernos analizados presentan (en términos generales) valores mayores de PF de aristas por espiguilla (ver Tabla 3. 1)Tabla 3. 1



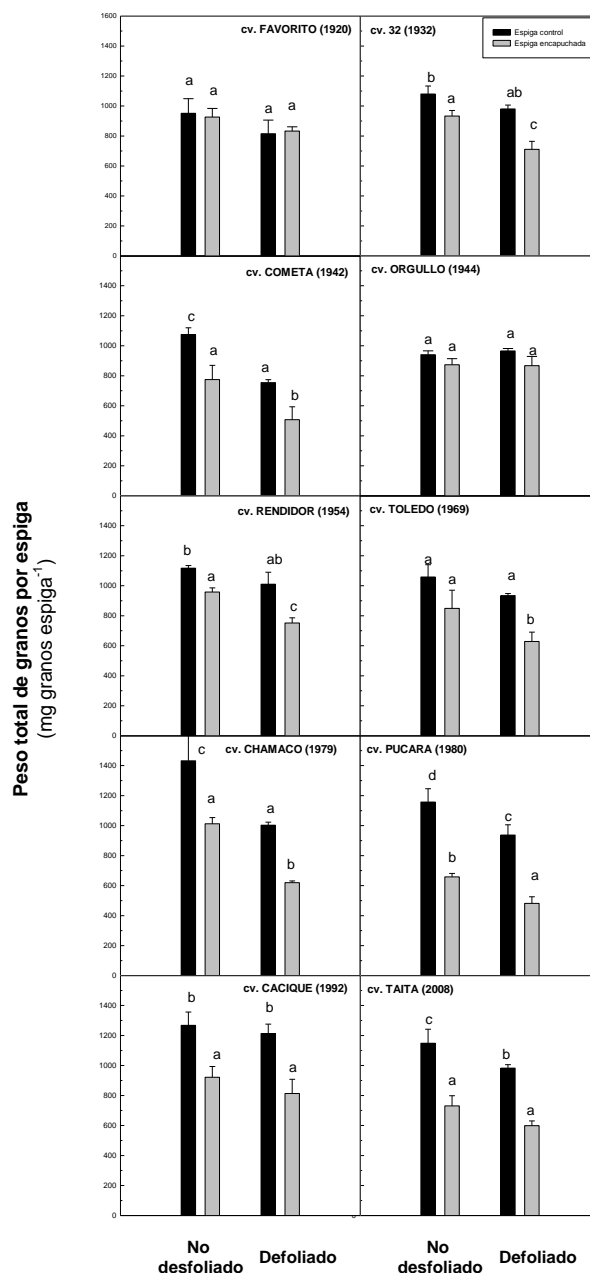
**Fig. 3. 3** Altura de planta y peso seco total de tallo y los diferentes entrenudos de los 10 cultivares del análisis retrospectivo (experimento V). Los entrenudos se enumeraron de 1 a 3 en sentido basípeto, es decir el entrenudo 1 incluye el pedúnculo de la espiga. Cada valor representa la media de tres réplicas (i.e. bloques) por cultivar. En cada bloque se analizaron los tallos de 10 macollos principales (para más detalles ver Materiales y métodos)

### Capítulo 3: Contribución de la Espiga al Llenado de Granos en Cultivares Antiguos y Modernos de Trigo

**Tabla 3. 1 Tabla resumen de los diez cultivares utilizados en el estudio retrospectivo:** FAV (Favorito), cv. 32 (cv. 32), COM (cv. Cometa), ORG (cv. Orgullo), REN (cv. Rendido), TOL (cv. Toledo), CHAM (cv. Chamaco), PUC (cv. Pucara), CAC (cv. Cacique), y TAI (cv. Taita).

Cultivar	Año de liberación	Fecha de antesis (DDS)	Altura planta (cm)	P espiga (antesis) mg	Espiguilla espiga <sup>-1</sup>	Granos espiga <sup>-1</sup>	P granos espiga <sup>-1</sup> (mg espiga <sup>-1</sup> )	P grano individual (mg)	Granos espiguilla <sup>-1</sup>	PF aristas (mg espiguilla <sup>-1</sup> )
FAV	1920	109	133	583,5	17,8	25,9	951	37,3	1,5	0,00
'32'	1932	101	105	377,3	15,1	28,8	1079,8	37,6	1,9	10,90
COM	1942	104	118	307,7	17,6	29,7	1075,7	36,4	1,8	10,39
ORG	1944	109	123	735,1	17,9	27,3	940,8	34,8	1,7	0,00
REN	1954	101	109	386,7	16,0	28,7	1117	39	1,8	11,34
TOL	1969	93	101	304,0	14,3	25,7	1058	41,4	1,7	10,88
CHAM	1979	93	89	439,2	15,7	46,1	1432	31	3,1	11,34
PUC	1980	112	93	433,7	17,1	47,1	1157	24,8	2,8	15,22
CAC	1992	112	91	831,8	17,9	43,2	1267,7	29,5	2,5	14,72
TAI	2008	111	79	542,3	17,6	41,6	1148	27,8	2,3	13,27

En la Fig. 3. 4 (comparando las barras negras de cada figura) y en la Fig. 3. 5 se puede ver que el desfoliado redujo el peso de granos, entre un 0 y 30% dependiendo del cultivar y que no se observa una tendencia con el año de liberación de los cultivares. En la Fig. 3. 4 también encontramos el efecto del sombreado de espigas sobre el PG (peso total de granos por espiga) de granos. Al eliminar el aporte de la espiga (por encapuchado) el PG disminuye, y esta reducción se incrementa con el año de liberación de los cultivares. La mayor caída de peso de granos producto del sombreado de espiga se observó en los cultivares más modernos. Esto se puede ver al comparar la reducción del PG de un cultivar antiguo (ej. cv. Favorito) con un cultivar moderno (ej. cv. Taita) (comparando barras grises con negras de cada cultivar). En el cv. Taita la reducción por sombreado de espiga fue casi del 40%, (tanto en plantas control como en plantas desfoliadas) mientras que en cv. Favorito, por ejemplo fue casi nula (Fig. 3. 4).



**Fig. 3. 4. Peso de granos de los diez cultivares de trigo utilizados en el estudio retrospectivo de la contribución de la espiga al llenado.** Se muestran el efecto de los tratamientos de desfoliado y sombreado de espigas sobre el peso total de granos por espiga. En cada panel las barras de la izquierda corresponden a las plantas no desfoliadas y las barras de la derecha a las plantas desfoliadas. Las barras negras corresponden a espigas control (no sombreadas) y las barras grises a espigas sombreadas (= 'encapuchadas'). Cada valor representa la media de tres replicas (*i.e.* bloques) por tratamiento. En cada bloque se analizaron 7 espigas de los macollos principales. Diferentes letras denotan que las medias son significativamente diferentes según el test LSD ( $p < 0,05$ ). Para más detalles ver Materiales y Métodos.

Capítulo 3: Contribución de la Espiga al Llenado de Granos en Cultivares Antiguos y Modernos de Trigo

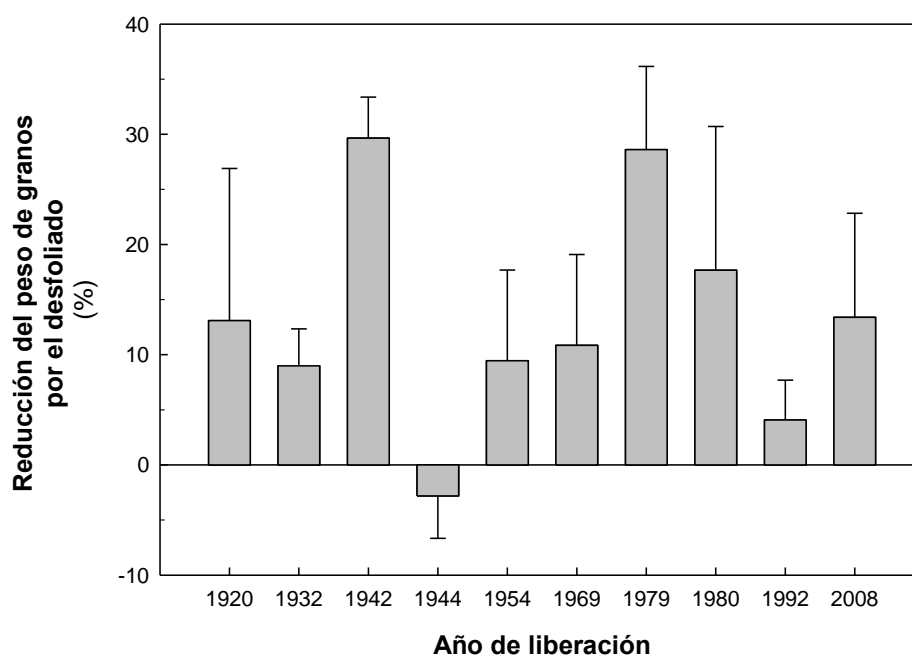
**Tabla 3. 2 Tabla de los porcentajes de reducción del número de granos por espiga (panel superior)**

**y del peso individual de grano (panel inferior) del estudio retrospectivo.** La primera parte de la abreviatura se refiere al tratamiento que se le realizó a las hojas (C= control o plantas no desfoliadas y D= plantas desfoliadas) y la segunda parte de la abreviatura al tratamiento que se le realizó a la espiga (C= espiga intacta, D= espiga desaristada y E= espiga sombreada (*i.e.* encapuchada). Cada valor representa el porcentaje de reducción del número de granos por espiga de cada tratamiento, respecto al valor de números de granos del tratamiento C/C.

Cultivar	C/D	C/E	D/C	D/D	D/E
FAVORITO	-	-26,01	-8,70	-	-16,10
cv. 32	4,50	3,34	3,54	13,16	23,26
COMETA	8,82	-2,67	11,20	9,08	13,38
ORGULLO	-	-0,26	6,91	-	-5,42
RENDIDOR	3,54	6,89	8,62	5,14	6,23
TOLEDO	10,59	5,85	-2,23	8,08	25,35
CHAMACO	12,65	2,57	6,24	17,64	16,38
PUCARA	12,39	11,14	9,54	12,6	14,14
CACIQUE	0,80	-2,87	-2,80	0,03	2,24
TAITA	6,87	3,53	0,32	-5,79	2,94

Cultivar	C/D	C/E	D/C	D/D	D/E
FAVORITO	-	21,55	11,35	-	23,65
cv. 32	0,14	10,21	5,06	5,18	11,07
COMETA	2,67	30,51	20,32	21,39	45,61
ORGULLO	-	7,74	-10,94	-	12,40
RENDIDOR	3,24	6,74	1,29	10,9	28,70
TOLEDO	8,86	15,53	13,02	16,42	35,38
CHAMACO	10,76	25,91	24,07	30,42	46,91
PUCARA	7,25	33,22	9,70	32,85	48,62
CACIQUE	13,02	29,20	7,76	26,41	35,44
TAITA	7,69	34,57	13,40	26,04	45,90

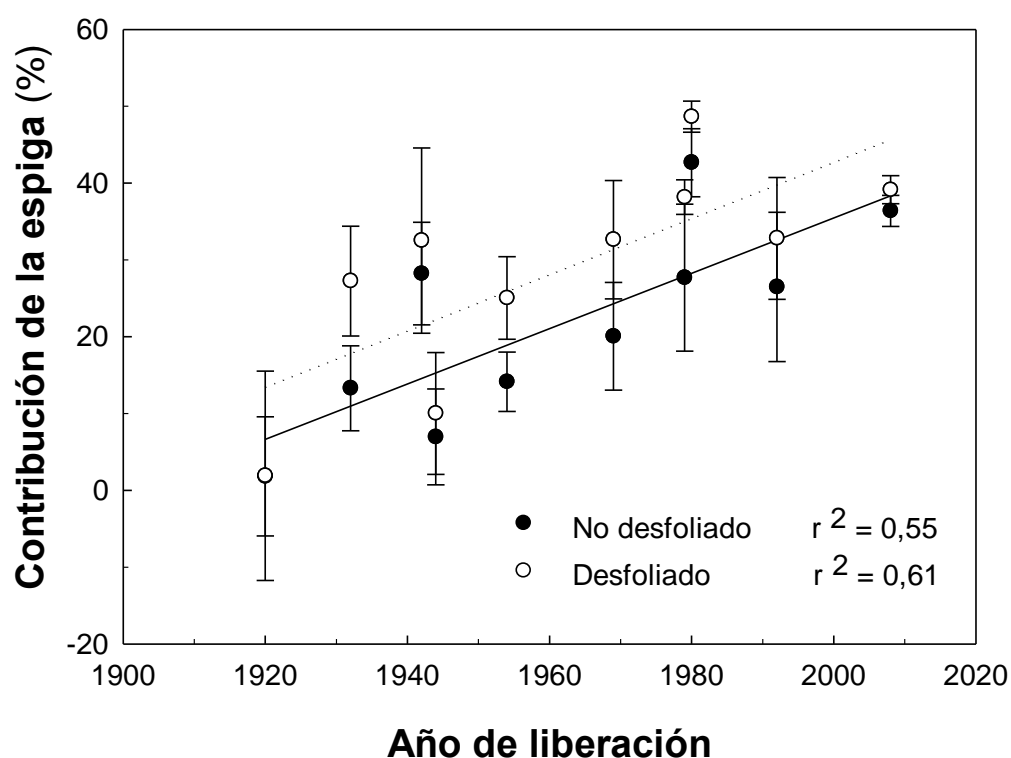
Como se puede ver en la Tabla 3. 2, el efecto de los tratamientos es principalmente sobre el peso individual de los granos. La reducción promedio del número de granos ronda el 5%, mientras que el efecto sobre el peso individual de grano alcanza un promedio del 20%.



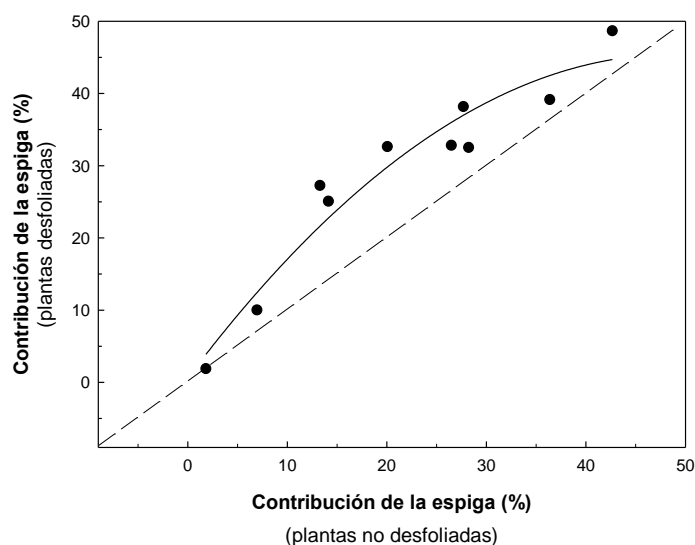
**Fig. 3. 5 Efecto del desfoliado sobre el peso de granos por espiga en los diez cultivares del experimento (V), expresado como porcentaje de reducción.** Cada valor es la media de tres replicas (parcelas), en cada una se analizaron 7 espigas por tratamiento.

En el cv. cultivar Taita se analizó el efecto de los tratamientos sobre el PG de espiguillas centrales, como en Kruk et al. 1997. Los granos de posición distal dentro de la espiguilla fueron los más afectados por los tratamientos de la espiga tanto en plantas desfoliadas como no desfoliadas (datos no mostrados).

Para analizar la tendencia de la mayor contribución de la espiga en los cultivares modernos, se calculó la contribución fotosintética de la espiga al llenado de granos de todos los cultivares (Fig. 3. 6). Claramente se ve como el aporte de la espiga se incrementó con el año de liberación de los cultivares ( $r^2= 0,55$  y  $r^2= 0,61$  en plantas no desfoliadas y en plantas desfoliadas respectivamente). Además, es importante señalar que en plantas desfoliadas la contribución fue mayor (comparar círculos negros vs. círculos blancos en Fig. 3. 6 y ver Fig. 3. 7).



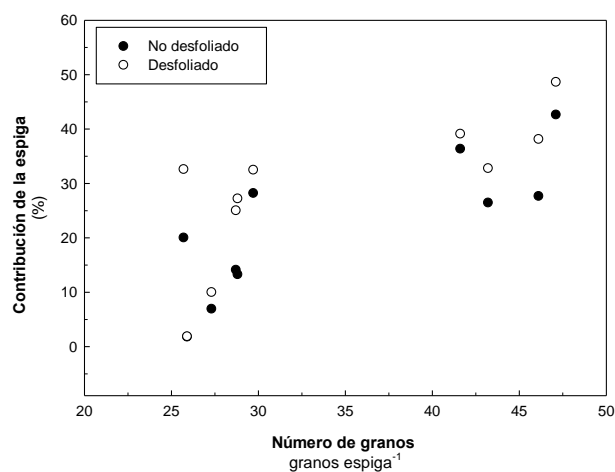
**Fig. 3. 6. Contribución de la espiga de los diez cultivares de la serie histórica vs el año de liberación de los respectivos cultivares, experimento (V).** Cada punto representa la media de tres replicas (bloques) por tratamiento. En cada bloque se analizaron 7 espigas por tratamiento. Círculos blancos se corresponden a plantas desfoliadas y círculos negros a plantas no desfoliadas. Se muestran también los respectivos coeficientes de determinación (*i.e.*  $r^2$ ). Nota: La contribución de la espiga del cultivar liberado en 1920 (cv. Favorito) en el tratamiento de “desfoliado” y de “no desfoliado” es la misma, por eso en el gráfico para este año de liberación se observa solo un punto.



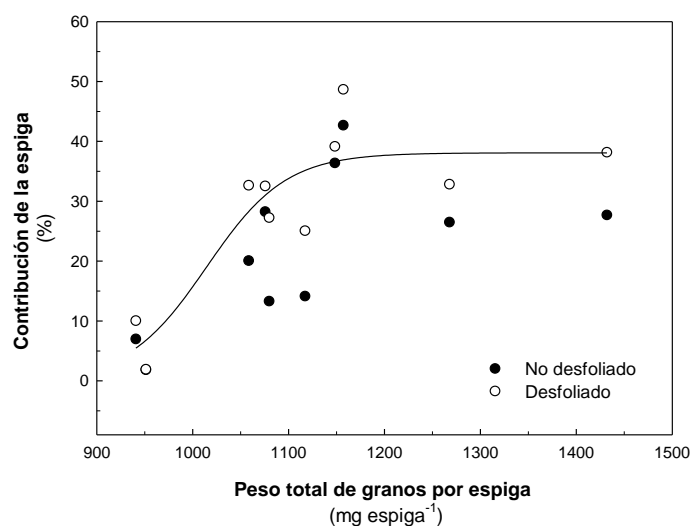
**Fig. 3. 7. Relación de la contribución de la espiga al llenado de los granos de plantas intactas (*i.e.* no desfoliadas) vs. desfoliadas en el estudio retrospectivo (experimento (V)).** Cada punto representa la media de tres replicas (parcelas) por tratamiento. En cada parcela se muestrearon 7 espigas por tratamiento. Para más detalles ver Materiales y Métodos. La línea de puntos representa la relación 1:1.

Por otro lado, al contrastar la contribución de la espiga de plantas desfoliadas vs. la contribución en plantas intactas, se observa que para los valores mayores de contribución de la espiga, el incremento de la contribución debido al tratamiento de desfoliado (*i.e.* compensación por la eliminación de las hojas) se reduce (ver Fig. 3. 7).

El incremento de la contribución de la espiga (Fig. 3. 6.) acompañó el crecimiento del número de granos ( $r^2 = 0,65$  y  $r^2 = 0,54$  plantas intactas y desfoliadas respectivamente; ver Fig. 3. 8). Sin embargo, esta correlación puede ser espuria, dada la presencia de dos grupos bien definidos de puntos (*i.e.* cultivares con bajo y alto número de granos). Los coeficientes de determinación pierden significancia cuando se analizan los dos grupos de cultivares por separado ( $r^2 = 0,3$  y  $r^2 = 0,2$  en plantas con bajo número de granos intactas y desfoliadas y  $r^2 = 0,4$  y  $r^2 = 0,06$  en plantas con alto número de granos intactas y desfoliadas respectivamente)



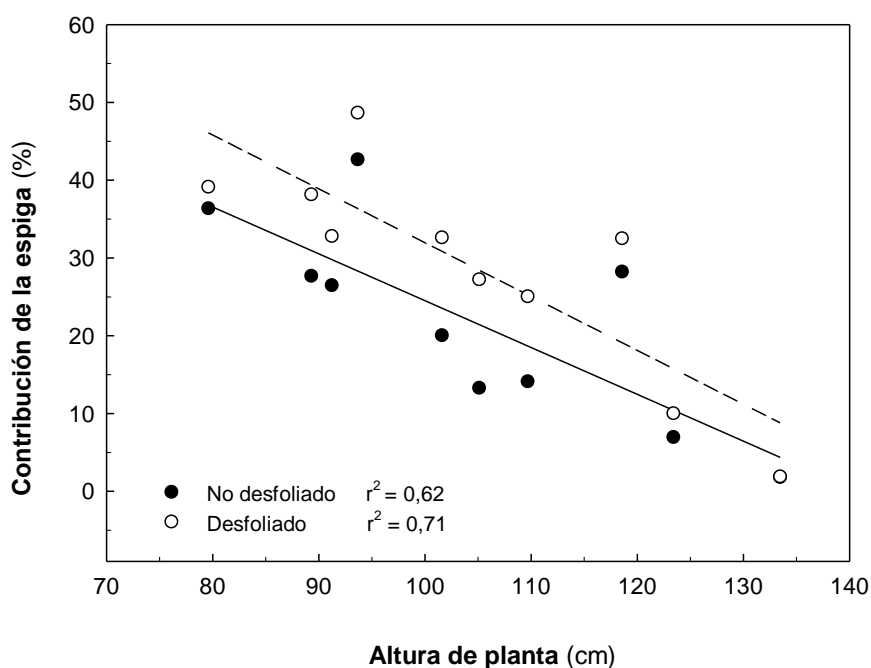
**Fig. 3. 8 Contribución de la espiga vs. el número de granos.** Cada punto representa la media de tres replicas (bloques) por tratamiento. En cada bloque se analizaron 7 espigas por tratamiento. Los círculos blancos corresponden a plantas desfoliadas y los círculos negros a plantas no desfoliadas.



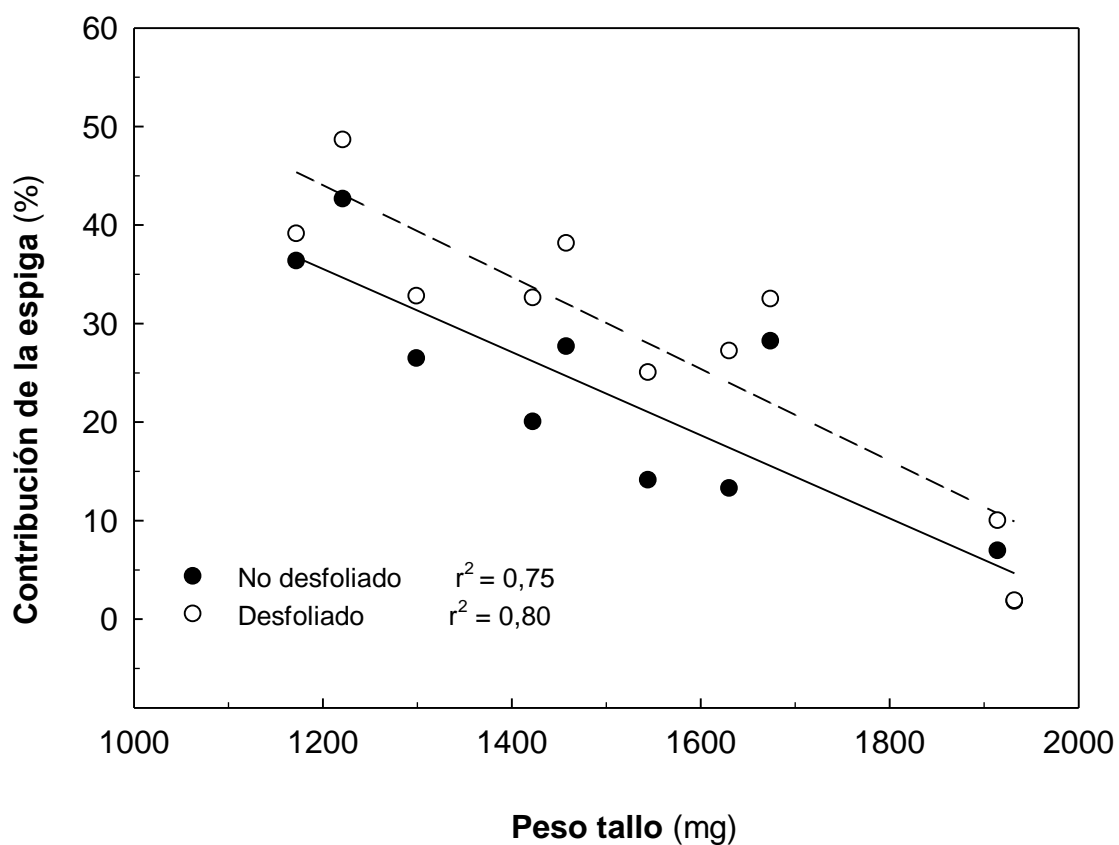
**Fig. 3. 9. Relación de la contribución de la espiga y el peso de granos por espiga, expresado como el peso total de granos por espiga.** Los círculos negros corresponden a valores de plantas sin desfoliar y los círculos blancos de las plantas desfoliadas. El ajuste para la serie de datos es  $R=0,79$  y  $R=0,9$  para plantas no desfoliadas y desfoliadas respectivamente.

En la Fig. 3. 9, se puede ver como la contribución de la espiga ha acompañado los incrementos en peso de granos por espiga; sin embargo para los valores más elevados de peso de granos se observa en la contribución de la espiga una tendencia a estabilizarse.

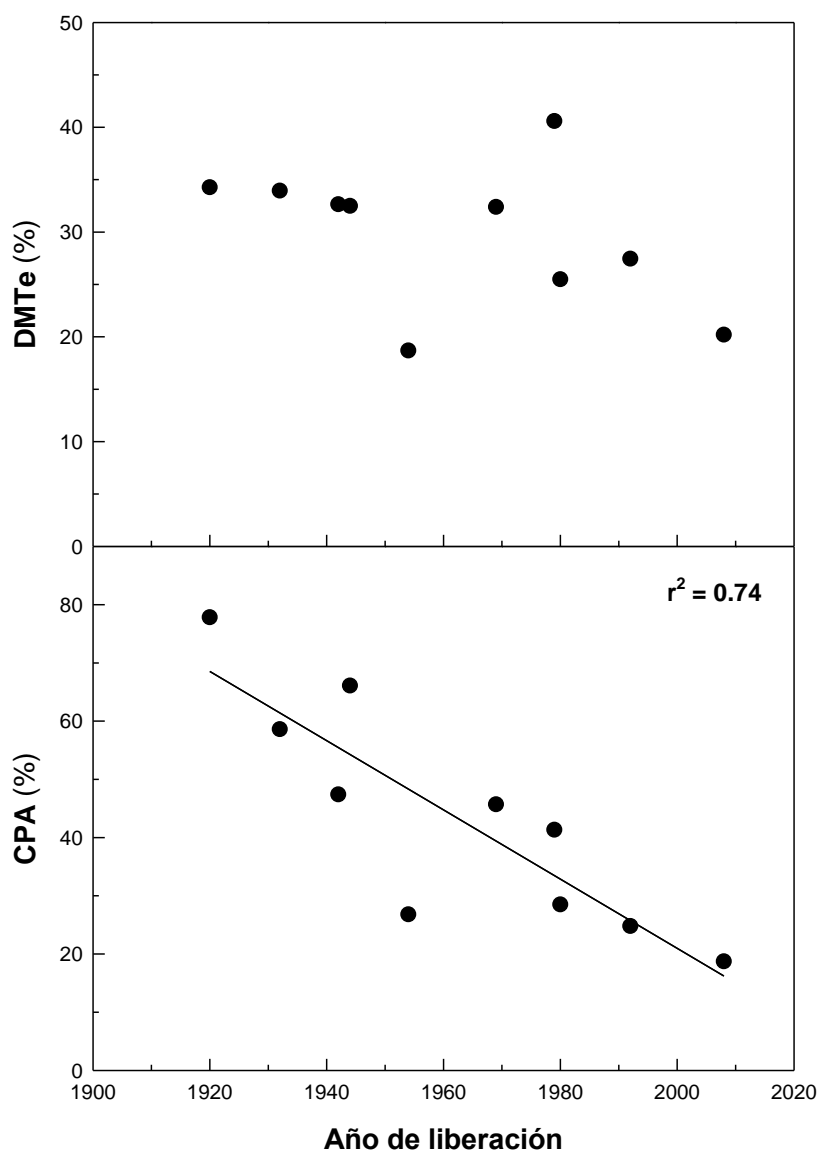
Cuando se analizó la contribución de la espiga en relación a la altura y peso seco de tallo, se encontró una fuerte correlación negativa (ver Fig. 3. 10 y Fig. 3. 11). Esta relación fue algo más fuerte con el peso de tallo, ( $r^2= 0,75$  y  $r^2= 0,80$  en plantas no desfoliadas y desfoliadas respectivamente) que con la altura de la plata ( $r^2= 0,62$  y  $r^2= 0,71$  en plantas no desfoliadas y desfoliadas respectivamente).



**Fig. 3. 10 Contribución de la espiga en relación a la altura del tallo en el experimento con los 10 cultivares de la Serie Histórica, experimento (V).** Cada punto representa la media de 3 bloques. En cada bloque se analizaron 7 tallos y espigas. Se determinó el coeficiente de determinación  $r^2$ .

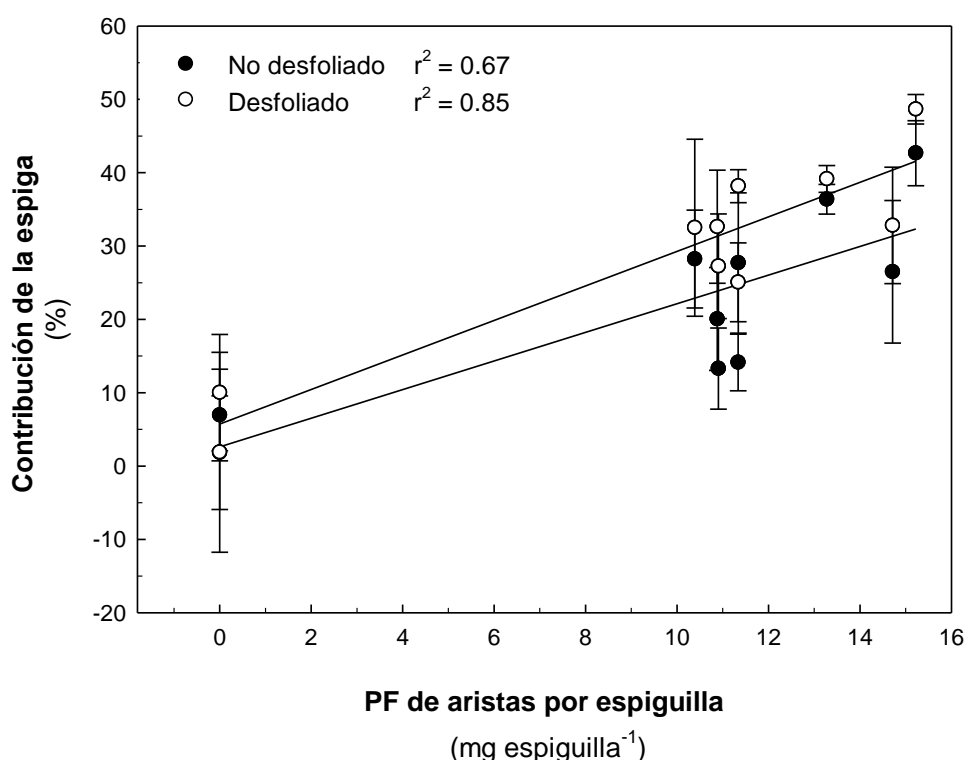


**Fig. 3. 11 Contribución de la espiga versus peso seco del tallo en el estudio retrospectivo, (experimento V).** Cada punto representa la media de cada cultivar (3 bloques por cv.). En cada bloque se analizaron 6 tallos y espigas por tratamiento y cultivar. Se muestra el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de cada recta.



**Fig. 3. 12. Análisis de retranslocados del estudio retrospectivo, (experimento V). Panel superior:** Eficiencia en la translocación de Materia Seca (DTMe %) y **Panel Inferior:** contribución de asimilados pre-anthesis al llenado de granos (CPA %) vs. el año de liberación de los diez cultivares de la serie histórica. DTMe % y CPA % fueron calculados como se detalla en Materiales y Métodos.

En la Fig. 3. 12 se puede ver la eficiencia de translocación de materia seca ( $DMT_e$ ) y la contribución de materia seca pre-antesis al llenado de granos (CPA). Aunque la  $DMT_e$  no muestra un cambio consistente en los cultivares liberados el diferentes años, la CPA, claramente ha disminuido respecto del año de liberación de los cultivares.



**Fig. 3. 13. Relación entre el tamaño de las aristas ( $\text{mg PF arista. espiguilla}^{-1}$ ) y la contribución de la espiga de los diez cultivares del estudio retrospectivo (experimento (V)).** Cada punto representa la media de cada cultivar (3 bloques por cv.). En cada bloque se analizaron 6 tallos y espigas por tratamiento y cultivar. Se muestran también los coeficientes de determinación ( $r^2$ ) para cada recta. Nota: La contribución de la espiga del cultivar liberado en 1920 (cv. Favorito) en el tratamiento de “desfoliado” y de “no desfoliado” es la misma, por eso en el gráfico para este año de liberación se observa solo un punto

La correlación entre el tamaño de las aristas y la contribución de la espiga fue alta ( $r^2=85$  y  $r^2=67$  en plantas desfoliadas y no desfoliadas respectivamente) (ver Fig. 3. 13); sin embargo, si se eliminan del análisis las líneas místicas (sin aristas) la correlación es menor, aunque aún significativa ( $r^2= 46$  y  $r^2= 42$  en plantas no desfoliadas y desfoliadas respectivamente).

### 3.3.2. Experimento (VI): Estudio de la contribución de la espiga en líneas iso-génicas con presencia/ausencia de alelos de enanismo.

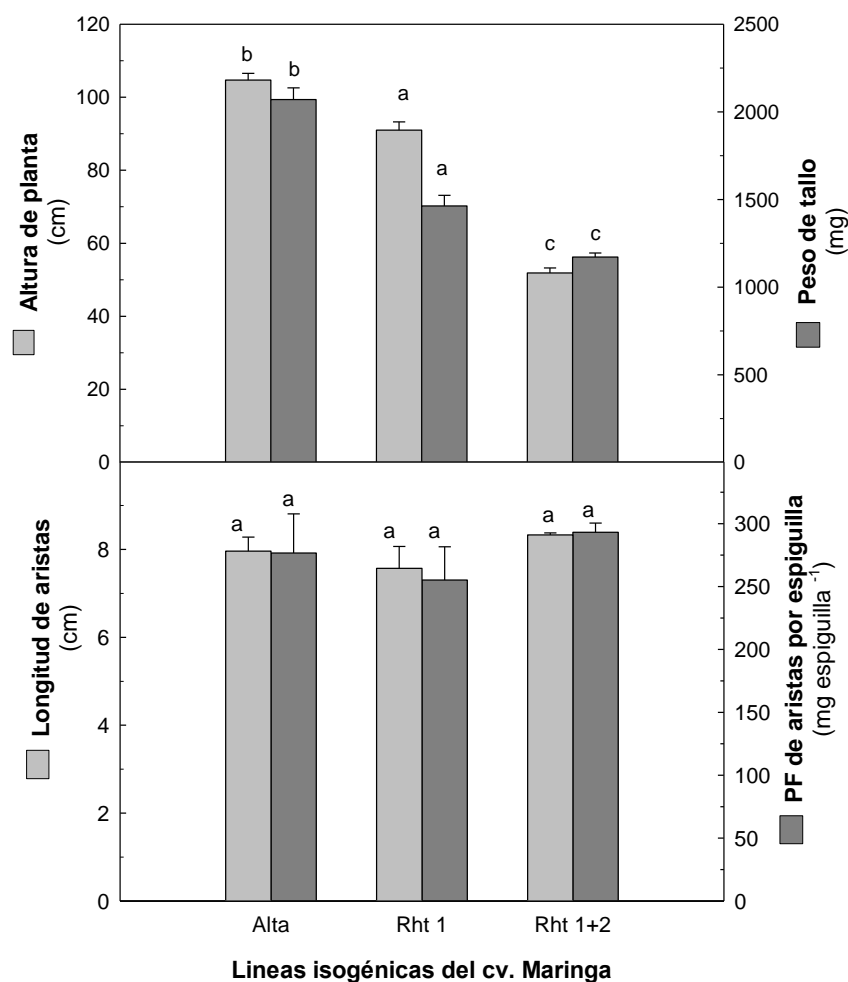
#### Rasgos morfológicos de las iso-líneas

Como puede verse en la Fig. 3. 14 o Tabla 3. 3, la iso-línea con un alelo de enanismo es semi-enana (Rht1), la planta tiene menor altura y menor peso seco de tallo. La iso-línea con dos alelos de enanismos (*i.e.* Rht 1+2), es enana, cuya altura de planta es de ca. 50 cm y se observa una reducción del PS de tallo de casi el 50% respecto a la iso-línea alta (*i.e.* sin alelos de enanismo) del cv. Maringa.

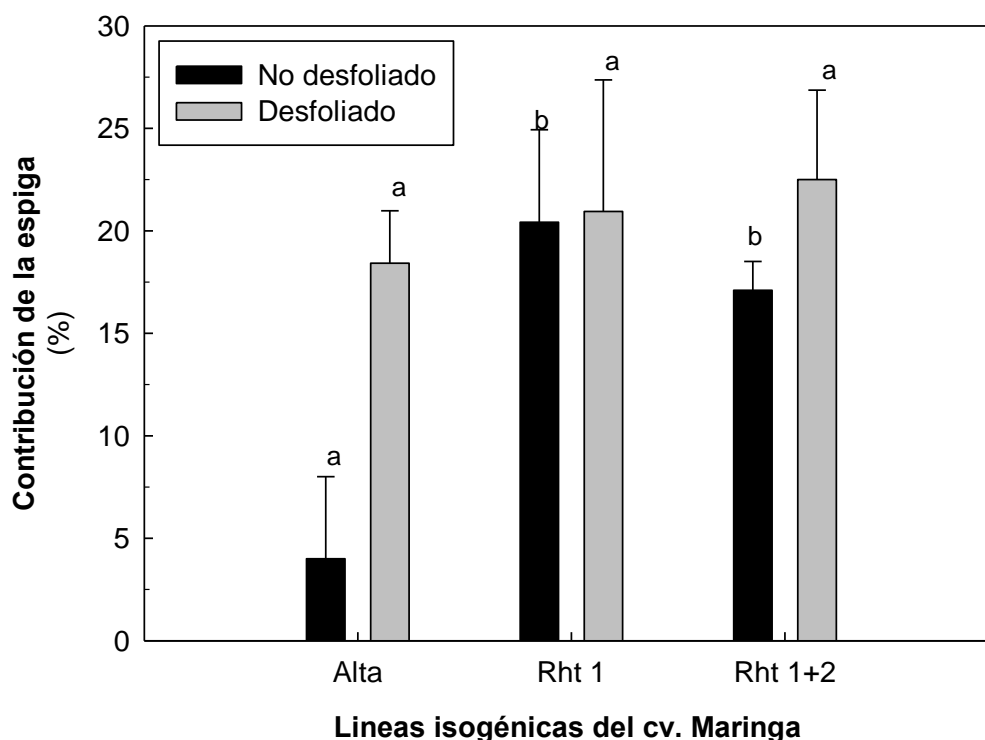
**Tabla 3. 3 Rasgos morfológicos de las 3 líneas isogénicas del cultivar Maringa.** La denominada como "Alta" no posee alelos de enanismo, Rht1 es la Iso-línea con 1 alelo de enanismo y la denominada "Rht1+2" es la iso-línea con dos alelos de enanismo (Rht1 + Rht2). Las medias señaladas por la misma letra no son significativamente diferentes según el test LSD ( $p<0,05$ )

Iso-líneas	P espiga antesis (mg espiga <sup>-1</sup> )	Espiguillas espiga <sup>-1</sup>	PF aristas (mg arista espiga <sup>-1</sup> )	Long cuerpo espiga (cm)	Granos espiga <sup>-1</sup>
'Alta'	2359 (a)	17,1 (a)	276 (a)	9,7 (b)	42 (a)
Rht 1	2436 (a)	16,6 (a)	255 (a)	8,5 (a)	41 (a)
Rht 1+2	2602 (a)	16,6 (a)	293 (a)	8,7 (a)	41 (a)

La iso-línea con un alelo de enanismo (Rht 1), mostró un 12% de reducción en la altura y un 30% de disminución en peso seco, respecto al cultivar sin alelos de enanismo. La línea con dos alelos de enanismo (*i.e.* Rht 1+2), mostró una reducción del 50% en altura de planta y casi del 60% del peso seco del tallo con respecto al cultivar alto. Como se puede ver en la Fig. 3. 14, las medidas de la parte vegetativa fueron modificadas por la presencia de los alelos de enanismo pero no ocurrió lo mismo con las partes de la espiga, exceptuando la longitud del cuerpo de la espiga, que se redujo significativamente con la presencia de los alelos de enanismo. Como puede verse en la Fig. 3. 14 (panel inferior) la longitud y el peso fresco de aristas no se vieron modificados por la presencia de uno o dos alelos de enanismo en el cv. Maringa. También puede observarse en esta figura que el peso de tallo en la línea enana (Rht1+2), cae relativamente poco respecto de la semi-enana, es decir parece haber una compensación por aumento del grosor del tallo (observación personal) o en la densidad (Fig. 3. 14).



**Fig. 3. 14 Características de tallo y de la espiga de las líneas isogénicas del cv. Maringa. Panel superior:** altura de planta y peso seco de tallo en anthesis. **Panel Inferior:** Longitud de aristas de las espiguillas centrales y PF de aristas por espiguilla. La iso-línea denominada como “Alta” no posee alelos de enanismo, Rht1 es la iso-línea con 1 alelo de enanismo y la denominada denominada “Rht1+2” es la iso-línea con dos alelos de enanismo (Rht1 + Rht2). Para más detalles ver Materiales y métodos. Diferentes letras indican que son significativamente diferentes según el test LSD ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 3. 15. Contribución de la espiga al llenado de granos de las iso-líneas del cv. Maringa.** La denominada como “Alta” no posee alelos de enanismo, Rht1 es la Iso-línea con 1 alelo de enanismo y la denominada “Rht1+2” es la iso-línea con dos alelos de enanismo (Rht1 + Rht2). Cada valor representa la media de tres bloques, en cada bloque se analizaron 7 espigas y fueron promediadas. Las barras negras representan la contribución de la espiga en plantas sin desfoliar y las barras grises en plantas desfoliadas. Para más detalles ver Materiales y métodos. Distintas letras indican diferencias significativas según el test LSD ( $p < 0,05$ ).

#### *Contribución de la espiga al llenado en las iso-líneas*

La contribución de la espiga fue mayor cuando estuvieron presentes alelos de enanismo, principalmente en plantas sin desfoliar. La fotosíntesis de la espiga en plantas no desfoliadas contribuyó con el 4% del peso de los granos en la iso-línea ‘alta’ y con el 22 y 16,5 %, en las iso-líneas Rht1 y Rht 1+2 respectivamente. La presencia de dos alelos de enanismo no mostró diferencias significativas en la contribución de la espiga con respecto a la iso-línea con un solo alelo de enanismo (*i.e.* ‘Rht1’). En plantas desfoliadas y comparando las tres líneas del cv. Maringa, no se observaron diferencias en la contribución de la espiga.

## 6.5. Discusión

### *¿Existe limitación por fuente en los cultivares modernos de trigo?*

Tal como fue discutido anteriormente, tradicionalmente se ha considerado que el llenado de granos es limitado por los destinos más que por la disponibilidad de asimilados durante el llenado de granos (*i.e.* Borrás et al. 2004; Savin y Slafer 1991). Esto se basa, por ejemplo, en experimentos de desfoliado que no generan una reducción significativa en el peso de granos por espiga (Kruk et al. 1997), principalmente en cultivares antiguos. Sin embargo las variedades modernas podrían estar menos limitadas por destino que las antiguas (Monneveux et al. 2005); es decir, la limitación por destino parece haberse reducido con la mejora genética. La existencia o no de limitación de fuente es controversial y existe evidencia en uno u otro sentido (*e.g.* Álvaro et al. 2008ab; Ahmadi et al. 2009; Cartelle et al., 2006). En nuestros tratamientos de desfoliado encontramos reducciones del peso de grano por espiga de hasta el 30% en algunos cultivares, tales como el caso del cv. Cometa y del cv. Chamaco (ver Fig. 3. 4). De todas formas, no se observó ninguna tendencia del efecto del desfoliado sobre el peso de granos con el año de liberación Fig. 3. 5. Tal como se mencionó en el capítulo 2 (pág. 64), trabajos recientes parecen evidenciar que cierta limitación de fuente podría estar emergiendo en cultivares modernos (Álvaro et al. 2008; Royo et al. 2008). Las discrepancias entre los reportes de limitación pueden ser explicadas por diferencias en el germoplasma, las condiciones ambientales o la aproximación experimental utilizada en cada caso. Por ejemplo en el trabajo de Kruk et al. 1997, que mencionamos arriba, solo se desfolió el macollo principal y no se consideraron los asimilados que podrían ser translocados desde los macollos secundarios, lo cual ha sido reportado en otros trabajos (Lupton 1966). Además, otra fuente de discrepancia es que en esos trabajos la contribución de la espiga no fue considerada (Kruk et al. 1997). Ahmadi et al., (2009) no encontraron limitación por fuente (*i.e.* observan poco efecto del desfoliado sobre el peso de granos); estos autores sugirieron que las aristas largas del cultivar y la retranslocación del tallo podrían haber compensado la reducción de asimilados producida por

la defoliación. En Borrás et al. (2004), muestran que el incremento en el peso de granos al aumentar la relación fuente-destino es menor al esperado de una relación 1:1. En la interpretación de los tratamientos de manipulación de fuente se debe tener en cuenta los mecanismos compensatorios que se pueden dar en los tejidos remanentes (Chanishvili et al. 2005). Dado que la tasa fotosintética puede incrementarse compensando la reducción del área foliar, la disminución de asimilados que estarán disponibles para el llenado no puede ser predicha simplemente a partir de la reducción del área fotosintética.

Debido a que los cultivares antiguos tienen más tejido vegetativo y menor número de granos, se podría haber esperado que éstos mostraran una menor respuesta al tratamiento de defoliado que los modernos; sin embargo la tendencia no fue clara (ver Fig. 3. 5). Esto podría ser explicado porque están interfiriendo en esta interpretación las diferentes proporciones en que contribuyen la fotosíntesis de la parte vegetativa y la removilización de asimilados del tallo en cada genotipo. Por ejemplo, las variedades antiguas tienen una relación fuente-destino alta, que está dada por un tamaño de destino pequeño, pero no está claro cuál es el aporte atribuible a la fotosíntesis de la parte vegetativa y cuál a la removilización del tallo. En nuestro trabajo encontramos que la contribución de la espiga es menor en las variedades antiguas, pero la tendencia del aporte de los retranslocados del tallo y de la fotosíntesis de las hojas no está clara a lo largo de la mejora. Desconocemos si variaciones en la proporción en que estos dos componentes contribuyan en cada cultivar al llenado generen la inconsistencia en el efecto del defoliado sobre el peso de granos a lo largo de la serie histórica.

Al analizarse el cambio de peso de los granos individuales del cultivar más reciente de esta serie histórica (cv. B. Taita, liberado en el 2008) se encontró que los granos más afectados por la reducción de fuente fueron los de posición distal en la espiguilla (*i.e.* G3). Resultados similares se encontraron en el análisis de los dos cultivares modernos analizados en el Capítulo 2 de esta tesis, y además es coincidente con reportes anteriores que describen la disminución del peso de granos individuales por reducción en la disponibilidad

de asimilados (Calderini y Slafer 2001; Sandaña et al. 2004) (ver discusión cap 2 pág. 73.)

Al contrastar la contribución de la espiga de plantas desfoliadas vs. la contribución de plantas no desfoliadas se observa que en los valores mayores de contribución de la espiga el incremento de contribución con el tratamiento de desfoliado (compensación por la eliminación de las hojas) se reduce (ver Fig. 3. 7). Esto podría sugerir que cuando las contribuciones llegan a los valores más altos, se reduce la capacidad *buffer* del aporte de la espiga para compensar la pérdida de asimilados producida por el desfoliado.

En la Fig. 3. 9, también se puede ver como la contribución de la espiga ha acompañado los incrementos en el peso de grano por espiga, sin embargo para los valores más elevados de peso de granos se observa en la contribución de la espiga una tendencia a estabilizarse. Serán necesarias nuevas investigaciones para identificar características asociadas a la mayor contribución de la espiga, y así exacerbar su carácter compensador.

#### *La contribución de la espiga y los alelos de enanismo*

Aunque desconocemos la composición alelica de los cultivares utilizados en el análisis retrospectivo, claramente se observa la disminución de la altura de las plantas y del peso seco de los tallos en antesis a lo largo de la mejora. La reducción de estos parámetros fue gradual, (*i.e.* no observándose una disminución abrupta de altura), debida a la incorporación de los alelos de enanismo. Además de la reducción en altura, los alelos de enanismo pueden reducir el área foliar en el período pre-antesis (Calderini et al., 1996). Aunque esto último no está claro ya que Álvaro et al. (2008) encontraron que el índice de área foliar no se modificaba en cultivares de trigo duro liberados durante el siglo pasado (análisis hecho sobre cultivares italianos y españoles). De todos modos, los cultivares enanos parecen ser menos eficientes en el uso de la radiación debido a la arquitectura de la planta y menor longitud de los entrenudos (Miralles y Slafer 1997). Ambas características, (reducción de la

biomasa de tallos y reducción de la eficiencia de uso de la radiación), podrían contribuir a una reducción en la fuente de asimilados. En este trabajo encontramos que esta reducción del tallo fue acompañada por un incremento en la contribución de las partes verdes de la espiga a lo largo de la mejora genética.

Tal como fue descrito anteriormente en esta tesis (ver introducción general y Cap. 2), los retranslocados del tallo son una importante fuente de asimilados durante el llenado de granos en trigo (Blum 1998; Plaut et al. 2004; Álvaro, Royo, et al. 2008; Cruz-aguado et al. 2000). Existen trabajos que muestran que con la presencia de alelos de enanismo (*i.e.* Rht) la cantidad de carbono almacenado en tallos se reduce, siendo la magnitud de esta reducción variable con el cultivar. Borrel et al. (1993), reportó que la reducción del 21% de la altura redujo en un 35% la cantidad de C almacenado en tallos. En nuestro trabajo, la disminución de la altura fue del 40% (Fig. 3. 3), por lo que el impacto sobre las reservas de C podría ser importante. También se le ha atribuido diferentes capacidades de contribuir a los entrenudos que componen el tallo, en nuestras mediciones todos los entrenudos se redujeron en igual proporción.

En Álvaro et al. (2008), se reportó que la contribución al llenado de granos de carbohidratos almacenados en pre-antesis se incrementa en los cultivares modernos. Estos autores consideran que la mayor demanda de los destinos podría determinar la removilización de las reservas del tallo. En ese trabajo se registraron en los cultivares modernos, además de una disminución de la biomasa del tallo, un incremento en la eficiencia de translocación ( $DMT_e$  relación entre materia seca removilizada del tallo y la materia seca del tallo en antesis). Por esta razón, en la presente tesis se analizó la  $DMT_e$  y la CPA (la relación de las reservas removilizadas respecto peso de granos de la espiga). En los cultivares que analizamos en este trabajo no se observó una tendencia clara de la  $DMT_e$  a lo largo de los años de liberación, pero definitivamente la CPA disminuyó en los cultivares modernos (ver Fig. 3. 12). De esta manera se podría especular que la caída de la contribución de los asimilados del tallo en

los cultivares modernos ha sido compensada por el incremento de la contribución de la espiga.

Existe evidencia indirecta que los alelos que confieren insensibilidad a las giberelinas no son expresados en algunas estructuras de la espiga (Webb et al. 1998). Por ejemplo, la elongación del raquis (Webb et al. 1998) y el tamaño de las células del pericarpio (Miralles et al. 1998) no son afectados en iso-líneas semi-enanas de trigo. En nuestro trabajo encontramos que la longitud de la aristas (las cuales son un importante órgano fotosintético tal como hemos descrito anteriormente) no ha sido afectada por la presencia de los alelos de enanismo (Fig. 3. 14). En otras palabras, la contribución fotosintética de la espiga podría haber sido menos afectada que otras 'fuentes' de asimilados durante el llenado de granos, tal como el peso del tallo y las reservas almacenadas en éste; Borrel et al. 1993).

Dado que los alelos de enanismo podrían tener una serie de efectos pleiotrópicos (por ejemplo, afectando el número de granos por espiga; Borner et al. 1993), no podemos excluir que la correlación registrada entre el peso del tallo y la contribución de la espiga sea en realidad, espuria. Por ejemplo, puede especularse que la existencia de un mayor tamaño de destino (v.g. mayor número de granos) promuevan mayores tasas fotosintéticas (por posible disminución de la inhibición *feedback*; Azcón-bieto 1983) y así, conducir a una mayor contribución de la espiga al llenado de granos. En definitiva, atendiendo a nuestros datos y la bibliografía, los posibles efectos pleiotrópicos de la presencia de alelos de enanismo no pueden ser descartados.

La relación entre la contribución de la espiga y el peso de tallo que reportamos en el análisis de las iso-líneas con/sin alelos de enanismo parece no ser consistente con lo hallado en el estudio retrospectivo. Esto puede evidenciarse al comparar la línea enana (Rht 1+2) con la semi-enana (Rht1), en la cual encontramos que a pesar de presentar una reducción significativa en el peso del tallo, no muestra mayor contribución de la espiga. Sin embargo, debe observarse que la caída del peso de tallo de la iso-línea semi-enana con respecto a la enana fue menor que la disminución de altura, lo cual podría estar

explicado por diferentes densidades o más probablemente, por diferentes grosores de los tallos (ver Fig. 3. 14, la iso-línea enana presentó tallos con mayor diámetro, observación personal). Esto podría explicar, al menos en parte, la ausencia de incremento de la contribución de la espiga en la iso-línea con doble dotación de alelos de enanismo (i.e. Rht1 + 2).

#### *Las aristas y el llenado de granos a lo largo de la mejora*

Si se considera solo la asimilación de CO<sub>2</sub> externo (atmosférico). Las aristas contribuyen con el 40-50% de la fotosíntesis neta de la espiga (Blum 1985). Por un lado, las aristas incrementan el área fotosintética de la espiga (30-50% dependiendo del genotipo Ali et al. 2010) y la tasa fotosintética por órgano es afectada por esto. Comparadas con las hoja bandera, las aristas presentan la ventaja que los cloroplastos permanecen intactos durante el llenado de granos, tanto estructural y funcionalmente (Li et al. 2006). El retraso en la senescencia de los órganos de la espiga también ha sido registrado por Martínez et al. 2003.

En el análisis retrospectivo no encontramos una clara tendencia en el tamaño de aristas de los cultivares respecto del año de liberación. Sin embargo, el estudio aquí presentado sólo incluye una serie histórica y las conclusiones quedan supeditadas al número de cultivares incluidos en el análisis. De todos modos, más allá de no observar una tendencia, en general se encontró que los cultivares modernos presentaban el mayor tamaño de aristas. Se desconoce si durante la mejora se ha seleccionado por mayor tamaño de aristas, y a pesar que a menudo se cita a las aristas como una atributo relevante, no está claro si existe algún efecto positivo sobre el peso total de granos por espiga (Tambussi et al. 2007). Esto será explorado en el capítulo 4.

### **3.6. Conclusiones**

Las conclusiones parciales de este capítulo de la tesis son: (1) la contribución de la fotosíntesis de la espiga al llenado de granos se incrementó en un set de cultivares antiguos y modernos liberados entre los años 1920 y 2008 en Argentina; (2) existe una fuerte correlación negativa entre la contribución de la espiga y el peso seco del tallo de los cultivares liberados en ese periodo; (3) los alelos de enanismo podrían estar involucrados en el incremento de la contribución de la espiga al llenado de granos, aunque nuestra información no es concluyente en este aspecto; (4) el incremento de la contribución de la espiga no parece ser explicado meramente con la variación del tamaño de las aristas; otras características como la refijación podrían estar involucradas. Se necesitan nuevas investigaciones para profundizar en estos aspectos aún no dilucidados.

### **Bibliografía**

- Ahmadi, A., Joudi, M. & Janmohammadi, M., 2009. Late defoliation and wheat yield: Little evidence of post-anthesis source limitation. *Field Crops Research*, 113(1), pp.90–93. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429009001014> [Accessed September 13, 2012].
- Ali, A.M. et al., 2010. Source-Sink Relationship between Photosynthetic Organs and Grain Yield Attributes during Grain Filling Stage in Spring Wheat (*Triticum aestivum*). *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY*, pp.509–515.
- Azcón-bieto, J., 1983. Inhibition of Photosynthesis by Carbohydrates in Wheat Leaves. , 2, p.1983.
- Berry, P.M. & Berry, S., 2007. Ideotype design for lodging-resistant wheat. *Euphytica*, 3(1), pp.165–179.
- Bingham, I.J. et al., 2007. Is barley yield in the UK sink limited? *Field Crops Research*, 101(2), pp.212–220. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429006002127> [Accessed September 13, 2012].
- Blum, A., 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica*, 100(1998), pp.77–83.
- Blum, A. et al., 1994. Stem Reserve Mobilisation Supports Wheat-Grain Filling Under Heat Stress. *Australian Journal of Plant Physiology*, 21(6), p.771. Available at: <http://www.publish.csiro.au/?paper=PP9940771>.
- Borner, a. et al., 1993. Pleiotropic Effects of Genes for Reduced Height (Rht) and Day-Length Insensitivity (Ppd) on Yield and its Components for Wheat Grown in Middle Europe. *Plant Breeding*, 111(3), pp.204–216. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0523.1993.tb00631.x> [Accessed October 17, 2012].
- Borrel, A.K., Incoll, D.L. & Dalling, M.J., 1993. The influence of the Rht1 and Rht2 on the deposition and use of stem reserves in wheat. , pp.317–326.
- Borrás, L., Slafer, G. a & Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research*, 86(2-3), pp.131–146. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429003001849> [Accessed August 30, 2012].
- Chanishvili, S.S. et al., 2005. Defoliation , Photosynthetic Rates , and Assimilate Transport in Grapevine Plants. , 52(4), pp.507–512.

- Chapman, S. C. et al., 2007. Relationships between height and yield in near-isogenic spring wheats that contrast for major reduced height genes. *Euphytica*, 157(3), pp.391–397. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10681-006-9304-3> [Accessed August 16, 2012].
- Cruz-aguado, J.A. et al., 2000. Morphological characteristics and yield components associated with accumulation and loss of dry mass in the internodes of wheat. , 66.
- Ehdaie, B. et al., 2006. Genotypic Variation for Stem Reserves and Mobilization in Wheat: II. Postanthesis Changes in internode Water-soluble Carbohydrates. *Crop Science*, 46(5), p.2093. Available at: <https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/46/5/2093> [Accessed October 9, 2012].
- Flintham, J.E. et al., 2000. Optimizing wheat grain yield: effects of Rht (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE*, 128(01), pp.11–25.
- Foulkes, M.J. et al., 2007. Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat. *Field Crops Research*, 103(1), pp.11–24. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429007000718> [Accessed August 2, 2012].
- Kruk, B.C., Calderini, D. F. & Slafer G. A., 1997. Grain weight in wheat cultivars released from 1920 to1990 as affected by post\_anthesis defoliation.pdf. *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE*, 128, pp.273–281.
- Li, X. et al., 2006. Awns play a dominant role in carbohydrate production during the grain-filling stages in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum*, 127(4), pp.701–709. Available at: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.2006.00679.x> [Accessed July 26, 2012].
- Lupton, F.G.H., 1966. Translocation of photosynthetic assimilates in wheat. *Annals of Applied Biology*, 57(3), pp.355–364. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.1966.tb03829.x>.
- Mathews, Ky L. et al., 2006. Global Adaptation of Spring Bread and Durum Wheat Lines Near-Isogenic for Major Reduced Height Genes. *Crop Science*, 46(2), p.603. Available at: <https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/46/2/603> [Accessed October 9, 2012].
- Maydup, M.L. et al., 2012. Field Crops Research The contribution of green parts of the ear to grain filling in old and modern cultivars of bread wheat (*Triticum aestivum* L.): Evidence for genetic gains over the past century.

- Field Crops Research*, 134, pp.208–215. Available at:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2012.06.008>.
- Miralles, D J et al., 1998. Dwarfing genes and cell dimensions in different organs of wheat. *Journal of experimental botany*, 49(324), pp.1119–1127.
- Miralles, D.J. & Slafer, G.A., 1996. Grain Weight Reductions in Wheat Associated with Semidwarfism : an Analysis of Grain Weight at Different Positions Within the Spike of Near-isogenic Lines. *J. Agronomy & Crop Science*, 16(177), pp.9–16.
- Peng, J. et al., 1999. ' Green revolution ' genes encode mutant gibberellin response modulators . , 400(6741), p.6741.
- Plaut, Z. et al., 2004. Transport of dry matter into developing wheat kernels and its contribution to grain yield under post-anthesis water deficit and elevated temperature. *Field Crops Research*, 86(2-3), pp.185–198. Available at:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429003001898> [Accessed July 16, 2012].
- Rawson, B.H.M. & Evans, L.T., 1971. THE CONTRIBUTION OF STEM RESERVES TO GRAIN DEVELOPMENT I N A RANGE OF WHEAT CULTIVARS OF DIFFERENT HEIGHT By H. M. RAWSON\*? and L. T. EVANS\* . , (1968), pp.851–863.
- Royo, C. et al., 2007. Genetic changes in durum wheat yield components and associated traits in Italian and Spanish varieties during the 20th century. *Euphytica*, 155(1-2), pp.259–270. Available at:  
<http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10681-006-9327-9> [Accessed September 13, 2012].
- Sandaña, P., Harcha, C. & D., C., 2004. EFECTO DE LA RELACION FUENTE-DESTINO DURANTE EL LLENADO DE GRANOS EN LOS CULTIVOS DE TRIGO, ARVEJA Y LUPINO DE HOJA ANGOSTA. *Estudio financiado por FUNAFION ANDES Escuela de Graduados, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile.*, pp.4–5.
- Webb, S.E. et al., 1998. Gibberellins in internodes and ears of wheat containing different dwarfing alleles. *Phytochemistry*, 47(5).
- Zadoks, J.C., Chang, T.T. & Konzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14, pp.415–421.
- Álvaro, F., Isidro, J., et al., 2008. Breeding Effects on Grain Filling, Biomass Partitioning, and Remobilization in Mediterranean Durum Wheat. *Agronomy Journal*, 100(2), pp.361–370.

- Álvaro, F., Royo, C., et al., 2008. Grain Filling and Dry Matter Translocation Responses to Source–Sink Modifications in a Historical Series of Durum Wheat. *Crop Science*, 48(4), p.1523. Available at: <https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/48/4/1523> [Accessed August 13, 2012].
- Álvaro, Fanny, Isidro, Julio, et al., 2008. Old and modern durum wheat varieties from Italy and Spain differ in main spike components. *Field Crops Research*, 106(1), pp.86–93. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429007002304> [Accessed September 13, 2012].

# Capítulo 4

Rol de las Aristas de Trigo  
Pan Durante el Llenado del  
Grano

## **El rol de las aristas de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) durante el llenado de granos: aspectos fisiológicos y su contribución fotosintética**

### **4.1. Introducción**

Las aristas de la espiga (prolongaciones filiformes de las lemmas) son órganos con características xeromórficos que han sido reportadas como una importantes fuente de asimilados durante el llenado de granos en cereales (e.g. en cebada, Bort et al. 1994; y Li et al. 2006 en trigo), principalmente en condiciones de déficit de fuente. Sin embargo, su contribución real a la fotosíntesis de la espiga y al llenado de los granos es contradictoria (Tambussi et al. 2007). Evans et al. (1972) reportó que frente a situaciones de déficit hídrico, el incremento de la contribución fotosintética de la espiga al llenado de granos, en cultivares sin aristas era de 13 a 24% mientras que en cultivares con aristas era de 34 a 43%.

La capacidad fotosintética de la espiga está muy relacionada al aumento del área superficial (Blum 1985b), ya que la presencia de aristas incrementa entre el 36 y el 59% la superficie fotosintética de la espiga, (dependiendo del cultivar), y representa un importante aumento en términos de captación de luz (Motzo and Giunta 2002). La contribución de las aristas al total de la fotosíntesis de la espiga ha sido alta, alcanzando valores de 50% o más en algunos casos de déficit hídrico pos-antesis (Tambussi et al. 2007 y referencias ahí citadas). En general las aristas parecen ser más importantes en *Hordeum* que en *Triticum* y en trigo duro (*T. turgidum* va. *durum*) que en trigo pan (*T. aestivum*) (Blum 1985a). En cebada (con aristas largas) la contribución de las aristas puede alcanzar hasta el 90% de la fotosíntesis total de la espiga (Ziegler-Jöns 1989). Los trigos hexaploides (v.g. trigo pan *T. aestivum*) tienen aristas más cortas que los tetraploides (trigo duro; Blum 1985a), y así, un incremento en el tamaño de aristas de trigo pan podría ser importante para incrementar la contribución al llenado de granos.

Existen varios trabajos que analizan aspectos fisiológicos de las aristas, pero el impacto de su presencia/ausencia (o longitud de las aristas) sobre el llenado de granos continúa siendo controversial. De hecho, se han reportados efectos positivos (Blum 1985b; Motzo & Giunta 2002; Martin et al. 2003; Weyhrich et al. 1994), parcialmente positivos (Tambussi et al. 2007; Bort et al. 1994), neutrales (Foulkes et al. 2007) y negativos (Mc Kenzie, 1972). La evidencia molecular, apoya la importancia de las aristas respecto de la fotosíntesis total de la espiga de cereales de invierno. Por ejemplo, en estudios realizados en cebada, se ha observado que en las aristas se expresan principalmente genes relacionados con la fotosíntesis (*v.g.* biosíntesis de clorofila y carotenoides) mientras que en lemmas y paleas se expresan mayormente genes relacionados con la defensa. Esta información apoya la idea de que el rol de las aristas sería principalmente fotosintético, siendo el de lemmas y paleas, de protección de los granos (Abebe et al. 2009). A pesar de existir algunos trabajos que exploran en aspectos fisiológicos de las aristas (*i.e.* en cebada Bort et al. 1994; Tambussi et al. 2005), hasta donde nosotros conocemos, no se han realizado estudios que analicen la variabilidad del tamaño de aristas y su correlación con su contribución al llenado, ni se ha estudiado si la contribución de las aristas ha cambiado con los programas de selección empírica por rendimiento.

Un aspecto escasamente explorado es la influencia de la presencia de aristas sobre la temperatura de la espiga. Además de los efectos fisiológicos sobre la fotorrespiración y la senescencia, la influencia de la temperatura de la espiga (la cual podría estar afectada por la presencia de aristas) podría impactar sobre el llenado de granos. Está bien caracterizado que a temperaturas superiores a los 15°C, cada °C de incremento es deletéreo para el peso de los granos de cereales como el trigo o la cebada (Savin 2010). En referencia al efecto de la presencia de aristas sobre la temperatura de la espiga, la escasa bibliografía en este tema reporta efectos contradictorios, tanto que incrementa la temperatura de la espiga (Panozzo et al. 1999) como que disminuye la temperatura del canopeo (Motzo & Giunta 2002). Las discrepancias entre estos resultados se desconocen, aunque podrían estar

involucrados los efectos ambientales, genóticas o de los métodos de medición.

#### Objetivos e hipótesis

El objetivo general de este capítulo es analizar algunos aspectos fisiológicos de las aristas y de la contribución de las aristas al llenado de granos.

En una primera sección de este capítulo los objetivos son:

(1) Estudiar la actividad fotosintética (ETR, tasa de transporte de electrones) indirectamente mediante fluorescencia modulada de la clorofila, en forma comparativa en hoja bandera, cuerpo de la espiga y aristas durante el llenado de granos.

(2) Analizar la respuesta diferencial de la hoja bandera y de las aristas al estrés hídrico, mediante la medición de variables de estado hídrico (contenido relativo de agua, potencial hídrico) y actividad fotosintética (ETR).

(3) Estimar el efecto de la presencia/ausencia de aristas sobre la temperatura del cuerpo de la espiga.

En una segunda sección se profundiza en la contribución de las aristas al llenado de granos, cuyos objetivos específicos fueron:

(4) Analizar la variabilidad del tamaño de aristas en un set de cultivares comerciales de trigo pan de Argentina.

(5) Estudiar una posible correlación entre en el tamaño de aristas y la contribución de la espiga de 6 cultivares de argentinos con diferente tamaño de aristas.

(6) Explorar si el tamaño de las aristas y su contribución al llenado de granos cambiaron durante la última centuria en un set de cultivares antiguos y modernos (estudio retrospectivo).

La hipótesis general subyacente a este Capítulo es que existe variabilidad en las características de las aristas de los cultivares de trigo pan argentinos y que estas características (v.g. tamaño de aristas) se correlacionan con la contribución de la espiga al llenado de los granos. Las hipótesis particulares son:

1. Las aristas y la hoja bandera poseen diferente comportamiento fotosintético durante el llenado de granos.

2. Las aristas y la hoja bandera poseen un comportamiento diferencial frente al déficit hídrico.

3. Las aristas también podrían actuar modificando la temperatura del cuerpo de la espiga e impactando en el llenado de los granos.

4. Existe variabilidad en el tamaño de aristas en cultivares comerciales de Argentina.

5. El tamaño de las aristas se correlaciona positivamente con la contribución de la espiga.

6. La contribución de las aristas en el llenado de granos ha cambiado a lo largo de la mejora genética.

## 4.2. Materiales y métodos

Con el fin de desarrollar los objetivos propuestos se realizaron 5 experimentos:

Experimento (VII): Estudio de la fotosíntesis de la hoja bandera, del cuerpo de la espiga y de las aristas durante el llenado.

Experimento (VIII): Análisis del rol de las aristas en el balance térmico en la espiga.

Experimento (IX): Respuesta diferencial de la hoja bandera *versus* aristas al déficit hídrico.

Experimento (X): Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos de Argentina.

Experimento (XI): Evaluación del tamaño de las aristas en variedades antiguas y modernas de trigo y su relación a la contribución (estudio retrospectivo).

El descripto como experimento XI está incluido en experimentos de capítulos anteriores, pero por afinidad temática los resultados se muestran en esta parte de la Tesis.

#### **4.2.1. Experimento (VII): Estudio de la fotosíntesis de la hoja bandera del cuerpo de la espiga y de las aristas durante el llenado.**

##### **Material vegetal y condiciones de cultivo**

Se utilizaron dos cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) de ciclo largo con similar fecha de antesis (cv. Biolnta 3000 y cv. Klein Escudo), que poseen morfología contrastante en la espiga, en particular el largo de aristas (aristas cortas y con aristas largas respectivamente). Previamente hemos reportado mediante dos aproximaciones experimentales (ver Capítulo 2, pág. 43) que la contribución de la espiga al llenado de granos es mayor en el cv. K. Escudo que en el cv. Biolnta 3000.

Los cultivares fueron sembrados el 10 de julio del 2008 en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>1</sup> (UNLP), en parcelas de 1.4 x 6.4 m, (7 surcos, 20 cm. entre surcos), en bloques aleatorizados con tres repeticiones. En el panel inferior de la Fig. 2.1 se pueden ver las condiciones meteorológicas (pág. 44).

La densidad de plantas fue de 250 plantas por m<sup>-2</sup>. Se fertilizó con fosfato diamónico 100 kg ha<sup>-1</sup>, inmediatamente después de la siembra y con urea 250 kg ha<sup>-1</sup>, 75 días después de la siembra. La emergencia fue el 25 de julio. Las plagas fueron controladas por aplicación de productos según lo recomendado.

##### *Fluorescencia modulada de la clorofila: tasa de transporte de electrones (ETR)*

Se realizaron mediciones de fluorescencia modulada del fotosistema II (PSII) con un fluorímetro (FMSII, Hansatech, UK) de la hoja bandera, del cuerpo de la espiga (principalmente glumas y áreas expuestas de las lemmas) y de las aristas. Las mediciones se tomaron alrededor de mediodía en días soleados bajo las condiciones de densidad de flujo fotónico fotosintéticamente activo (PPFD, *photosynthetically-active photon flux density*) naturales, es decir

---

<sup>1</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

respetando la posición normal de cada órgano. Para la medición de las aristas, y con el fin de tener una señal adecuada de fluorescencia, varios de estos órganos fueron ubicados dentro de la pinza del fluorímetro. En todos los casos las mediciones se tomaron luego de alcanzar un valor estable de fluorescencia basal. Se midió el rendimiento cuántico del PSII y la tasa de transporte de electrones (*'Electron Transport Rate'*, ETR) se calculó como en Rosenqvist and van Kooten (2003). Para más detalles ver capítulo 2 pág. 54.

$$ETR = [F_{PSII} * PPFD * 0,5 * a]$$

Las mediciones se realizaron al medio día, entre las 11:00 y las 16:00 hs alternando entre los cultivares para reducir el sesgo debido a la hora de la toma de datos. Se midieron cuatro espigas y su respectiva hoja bandera a los 3, 17, y 24 DDA. (4 órganos en cada parcela).

#### *Mediciones de clorofila*

En antesis, 10 y 20 DDA se muestrearon espigas de los 3 surcos centrales de cada parcela. Se determinó el contenido de clorofila total de los órganos de la espiga: glumas, lemmas, aristas y pericarpio del grano (inicialmente como una estimación de la magnitud de la maquinaria fotosintética en estos órganos y posteriormente en el llenado, como indicador de senescencia). El contenido total de clorofila se midió según (Inskeep & Bloom 1985).

En antesis, 10 y 20 DDA se realizaron mediciones del perfil vertical del contenido de clorofila (analizado indirectamente por SPAD), de la hoja bandera y la inmediatamente inferior. Se midieron hojas de macollos principales ubicados en los tres surcos centrales de la parcela.

#### **4.2.2. Experimento (VIII): Respuesta diferencial de la hoja bandera versus aristas al déficit hídrico.**

Este experimento se realizó en condiciones semicontroladas (invernadero), en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE CONICET-UNLP) en La Plata. Se sembraron semillas de trigo pan cv. Buck Chambergo en macetas de 6 L rellenas con tierra (una planta por maceta; la tierra provenía de un argiudol típico). La temperatura media día/noche y máxima densidad de flujo fotónico fotosintéticamente activo fue aproximadamente de 28/20 °C y 1.500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  respectivamente. Todas las plantas se mantuvieron hasta capacidad de campo hasta 7 DDA, momento en el que se dividió al conjunto de macetas en dos grupos: con déficit-hídrico (E) y con riego (R). En las plantas E, el contenido hídrico del sustrato se determinó gravimétricamente y se mantuvo por riego cerca del 30% de su capacidad de campo. Las plantas bajo R se mantuvieron a capacidad de campo durante el experimento. 15 DDA se midió el estado hídrico (contenido relativo de agua y potencial agua) y tasa de transporte de electrones (ETR; ver más adelante).

##### *Estado hídrico*

El contenido relativo de agua (*Relative Water Content*, RWC) fue medido en aristas y en la lámina de la hoja bandera 15 DDA en plantas sometidas a déficit hídrico y en las plantas bajo riego. Se pesaron segmentos de la lámina de la hoja bandera y de aristas ( $w_i$ ) y se dejaron hidratando en agua destilada a 4° toda la noche, al cabo de esto fueron nuevamente pesados ( $w_f$ ) y secados en estufa a 60° por 48 hs, después lo cual se determinó la materia seca ( $w_d$ ). El contenido relativo de agua se calculó como:

$$\text{RWC} = \left[ \frac{(w_i - w_d)}{(w_f - w_d)} \times 100 \right]$$

El potencial agua fue medido en la hoja bandera de plantas E y R. En las aristas el potencial agua sólo se pudo medir en plantas bajo riego, dado que

en las plantas estresadas la presión requerida excedió el límite del equipo. Las mediciones se realizaron 15 DDA (alrededor de la mitad del período de llenado) usando una cámara de presión tipo Schölander (Biocontrol) más una lupa binocular, con un papel húmedo en el fondo de la cámara para evitar el exceso de evaporación. Dado que los valores de potencial hídrico ( $\psi$ ) en las aristas resultaron bajos (aún en plantas bien regadas), para testear si éstos valores se deben a la actividad transpiratoria, se midió también el potencial hídrico pre-alba y el potencial de aristas totalmente hidratadas (incubadas durante la noche en agua en forma similar a la determinación del RWC).

#### *Actividad fotosintética (Fluorescencia modulada de la clorofila)*

Se realizaron mediciones de fluorescencia modulada del fotosistema II (método del pulso saturante) de la hoja bandera y de las aristas, con un fluorímetro (FMSII, Hansatech, UK). Las mediciones se tomaron en días soleados bajo las condiciones *in-situ* de PPFD. Para la medición de las aristas, se colocaron varios de estos órganos dentro de la pinza del fluorímetro y se midió en tres posiciones (i) posición vertical (normal) en la cara de menor PPFD incidente, (ii) posición vertical, en la cara de mayor PPFD incidente y (iii) en posición horizontal. En todos los casos las mediciones se tomaron luego de alcanzar un valor estable de fluorescencia basal. Se midió el rendimiento cuántico del fotosistema II y la tasa de transporte de electrones (ETR, ver más arriba) se calculó como en Rosenqvist and van Kooten (2003).

#### **4.2.3. Experimento (IX): Análisis del rol de las aristas en el balance térmico en la espiga**

##### *Patrón térmico diario de espigas intactas y de espigas desaristadas*

En un experimento en condiciones de campo similar al descrito en el experimento (VII) pero realizado durante el 2011, se midió el curso de la temperatura en espigas control (intactas) y en espigas desaristadas. Las

mediciones de temperatura fueron tomadas por sensores de termocuplas (cobre-constantano tipo 'T' TC1047A Microchip Inc.) y la información fue registrada por un *data logger* TC- Logger 16 ([www.cavadevices.com](http://www.cavadevices.com)). Las termocuplas se insertaron debajo de las glumas de espiguillas centrales de espigas los cultivares cv. Biolnta 3000 y cv. Klein Escudo. El desaristado se realizó con tijeras. Se midieron 4 espigas (réplicas) de cada tratamiento y cultivar. Para evitar cualquier sesgo espacial, los sensores se ubicaron de a pares (dos espigas cercanas entre sí), incluyendo una espiga intacta y una desaristada en cada par y con los sensores orientados hacia el mismo punto cardinal. El patrón de temperatura de las espigas fue registrado durante varios días. La información meteorológica se puede ver en el panel inferior de la Fig. 3.1 (pág. 88).

#### *Análisis termográfico de la espiga*

Dado que el pequeño tamaño de las aristas no permite mediciones de temperatura con sensores de tipo termocupla, se tomaron imágenes termográficas. Se utilizaron plantas de los mismos cultivares utilizados anteriormente (*i.e.* cv. Biolnta 3000 y cv. Klein Escudo), crecidas en macetas en condiciones semicontroladas (invernadero; La Plata, en el Instituto de Fisiología Vegetal; INFIVE CONICET-UNLP). Las imágenes infrarrojas de las espigas se tomaron con una cámara Agema Thermovision 550 (rango espectral: 3,6 a 5 micrones; resolución Termica: 0,1 °C) (colaboración con el Lic. Patricio Fluxa<sup>2</sup>). Se asumió que la emisividad de la arista es similar a la del resto de la espiga.

---

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Ópticas, Universidad Nacional de La Plata, CONICET.

#### **4.2.4. Experimento (X): Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos de Argentina.**

##### **Material vegetal:**

Para analizar la variabilidad del tamaño de aristas de cultivares modernos de Argentina, se realizó un 'screening' en base a características morfológicas de la espiga, (en particular el largo de las aristas), sobre 27 cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* L.), sembradas en el año 2007 en la Red de Ensayos Territoriales, Campo Experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Bordenave (SO de la provincia de Buenos Aires<sup>3</sup>). Para incrementar las posibilidades de encontrar variabilidad en el tamaño de aristas se trabajó con cultivares provenientes de diferentes criaderos o programas de mejora: Klein (K.), Buck (B.), Asociación de Cooperativas Argentinas (ACA), INTA y Don Mario (D.M.). Los cultivares incluidos en el 'screening' fueron: (1) cv. Acienda (2) cv. Baguette Premiun11; (3) cv. Baguette 10; (4) cv. Baguette 19; (5) B. Malevo; (6) B. cv. Norteño (7) cv. BioInta 3003 (8) B. cv. Ranquel (9) K. cv. Guerrero (10) cv. BioInta 3000 (11) cv. ACA 304; (12) cv. ACA 303; (13) B. cv. Baqueano; (14) cv. BioInta 3004; (15) cv. ACA 315; (16) B. cv. Guatimozin; (17) K. cv. Capricornio; (18) K. cv. Jabalí; (19) K. cv. Gavilán; (20) B. cv. Arriero; (21) cv. INIA Torcaza; (22) D.M. cv. Themix L; (23) cv. ProInta Puntal; (24) cv. ProInta Huenpan; (25) cv. ACA 201; (26) Cooperación cv. Liquen; (27) B. cv. Guapo.

Para cuantificar el tamaño de aristas se calculó la relación de peso fresco (PF) de aristas x espiguilla<sup>-1</sup> de cada una de las 27 cultivares (ver Fig. 4. 10). A partir de estos resultados se seleccionaron 6 cultivares, intentando cubrir en forma representativa el rango de variación del carácter. Estos seis cultivares se utilizaron para el análisis de la contribución fotosintética de la arista y de la espiga y su posible correlación con el tamaño de las aristas. Las 6 variedades seleccionadas fueron: cv. Baguette Premium 11; cv. Baguette 19; B. cv. Puntal; cv. ACA 304; K. cv. Gavilán y B. cv. Guapo.

---

<sup>3</sup> (37° 50' 55"S; 63° 01' 20"W), Argentina

### **Condiciones de cultivo y diseño experimental:**

En el año 2008 se realizó la siembra en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>4</sup> (UNLP), en parcelas de 1 x 3.4 m, (5 surcos, 20 cm entre surcos), en bloques aleatorizados con tres repeticiones. El suelo es un arguidol típico (USDA).

La densidad de plantas fue de 250 plantas por m<sup>2</sup>. Se fertilizó con fosfato diamónico 100 kg ha<sup>-1</sup>, inmediatamente después de la siembra y con urea 250 kg ha<sup>-1</sup>, 75 días cerca de macollaje. La densidad de plantas y fertilización y sanidad fue similar a la de los experimentos anteriores.

Las condiciones climáticas se pueden ver en el panel inferior de la Fig. 2.1 (La Plata 2008) (pág. 42). Desde siembra a cosecha se registraron 407 mm y la temperatura media durante el llenado de granos fue moderada (16°C). Los bloques regados recibieron 75 mm adicionales dispersos durante el llenado de granos.

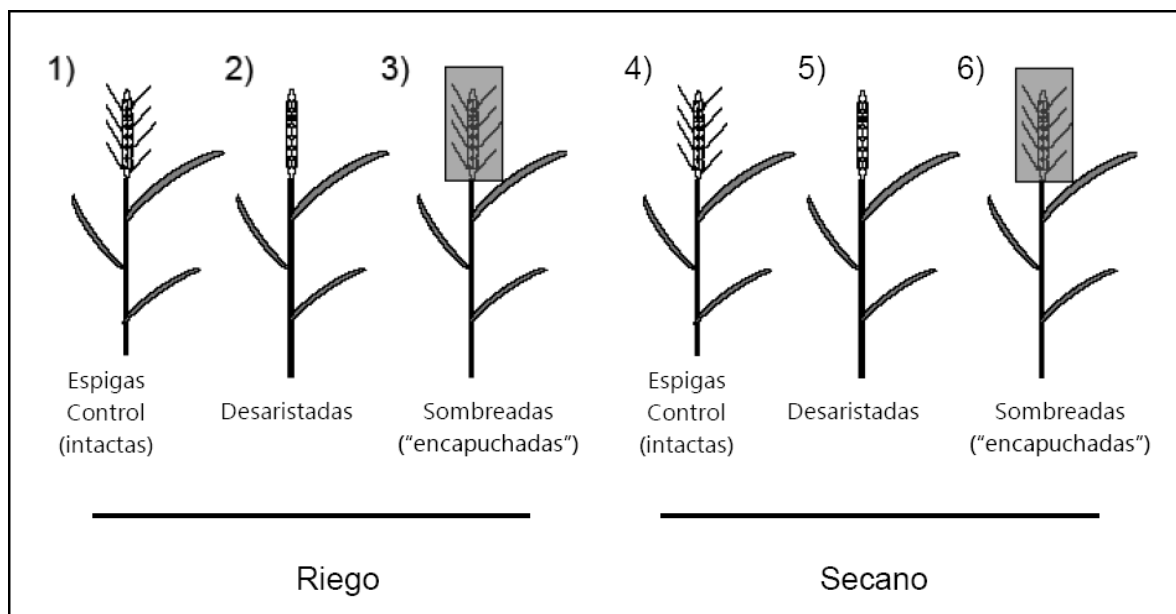
Se estimó la fecha de antesis (GS69, Zadoks & Board 1974) del mismo modo que experimentos anteriores y 10 DDA, en cada parcela se aplicaron 6 tratamientos: (1), (2) y (3) plantas regadas con espigas intactas, desaristadas y sombreadas respectivamente y (4), (5) y (6) plantas sin riego (tratamiento seco) con espigas intactas, desaristadas y sombreadas respectivamente (como se muestra en la Fig. 4. 1). El desaristado se realizó con tijeras cortando todas las aristas de la espiga a nivel de donde surgen en las lemas. El tratamiento de sombreado de la espigas se realizó por encapuchado con papel de aluminio tal cual fue detallado en capítulos anteriores (por ejemplo, ver capítulo 2 pág. 47).

---

<sup>4</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

### Muestras y mediciones

A madurez se analizó el peso y número de granos de 7 espigas de cada uno de los tratamientos.



**Fig. 4. 1** Diagrama mostrando los 6 tratamientos de la espigas en el Experimento (X) *Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos argentinos*. tratamiento (1), (2) y (3) plantas regadas con espigas intactas, desaristadas y sombreadas respectivamente y (4), (5) y (6) plantas sin riego (secano) con espigas intactas, desaristadas y sombreadas respectivamente. (Adaptado de Maydup et al. 2010).

### Contribución de las aristas y de la espiga al llenado de granos

Se calculó la contribución de las aristas al llenado de granos como:

$$= \left[ \frac{(PG_{\text{espigasintactas}} - PG_{\text{espigasdesaristadas}}) \times 100}{PG_{\text{espigasintactas}}} \right]$$

y la contribución de la espiga como:

$$= \left[ \frac{(PG_{\text{espigasno sombreadas}} - PG_{\text{espigas sombreadas}}) \times 100}{PG_{\text{espigasno sombreadas}}} \right]$$

donde PG es peso total de granos por espiga. Cada valor de contribución representa la media de tres parcela y en cada parcela se analizaron 7 espigas por tratamiento.

#### **4.2.5. Experimento (XI): Evaluación del tamaño de las aristas y modernas de trigo y su relación a la contribución (estudio retrospectivo)**

Para este experimento se utilizó un ensayo idéntico que en el experimento (V): '*Estudio retrospectivo de la contribución relativa de la espiga de cultivares liberados al mercado en Argentina entre 1920 y 2008*' del capítulo 3 (ver pág. 87).

#### **Material vegetal:**

Se utilizaron 8 cultivares de *Triticum aestivum* L. liberados al mercado entre 1932 y 2008. Las semillas fueron obtenidas de los bancos de germoplasma de Criadero Klein S. A. (K.) y de Buck Semillas S. A. (B.) y posteriormente multiplicadas. Los cultivares utilizados en este experimento fueron: (1) K. cv. 32 (1932), (2) K. cv. Cometa (1942), (3) K. cv. Rendidor (1954), (4) K. cv. Toledo (1969), (5) K. cv. Chamaco (1979), (6) B. cv. Pucará (1980), (7) K. cv. Cacique (1992), y (8) B. cv. Taita (2008). En el capítulo 3 se muestra que la contribución fotosintética de la espiga se incrementa con el año de liberación en este set de cultivares. En el presente análisis se excluyeron los dos cultivares míticos (sin aristas), es decir K. cv. Favorito (1920) y K. cv. Orgullo (1944), que sí fueron incluidos en el análisis de la contribución de la espiga. Tal como fue descrito en el capítulo 3 (pág. 89), esta serie histórica incluye cultivares liberados antes y después de la introducción en Argentina de germoplasma mexicano con alelos de enanismo.

### **Condiciones de cultivo y diseño experimental:**

El ensayo a campo se sembró el día 7 de julio del 2009 en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de Los Hornos<sup>5</sup> (UNLP), en idénticas condiciones que el experimento 1. La emergencia fue el 22 de julio.

Las condiciones meteorológicas durante los meses del cultivo se pueden ver en el panel superior de la Fig. 3.1 (La Plata 2009, pág. 88). Las precipitaciones desde la siembra a cosecha fueron altas (> 400 mm) y durante el llenado de granos las temperaturas fueron moderadas (media de 16°C aproximadamente), desde noviembre a mediados de diciembre.

En antesis (GS69, Zadoks & Board 1974), se muestrearon 5 espigas de cada una de las tres parcela (3 réplicas) de cada cultivar, y se realizó el análisis de tamaño de aristas del mismo modo que en el experimento anterior (PF de aristas por espiguilla). Con el fin de tener un estimador indirecto del grado de xeromorfía de las aristas, también se analizó la proporción de agua de los tejidos de las aristas comparando el peso de aristas frescas y de aristas secadas en estufa a 60°C (hasta registrar peso constante).

Después de antesis (GS69, Zadoks & Board 1974) en cada parcela se incluyeron los siguientes tratamientos: (1) espigas intactas y (2) espigas desaristadas, en plantas no intactas (no desfoliadas) y en plantas desfoliadas, (similar a lo ilustrado en la Fig. 4. 1, con la salvedad que los tratamientos de riego y seco se reemplazaron por los de plantas desfoliadas y no desfoliadas). Los tratamientos de desfoliado se realizaron en todos los vástagos ubicados a lo largo de 1 m de longitud sobre la hilera, eliminando todas las hojas verdes. La contribución de las aristas se calculó como en el experimento (X) de este capítulo (*Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos de Argentina*, ver pág. 135).

---

<sup>5</sup> La Plata, 34° 54' 24''S; 57° 55' 56''W, Argentina

## Análisis estadísticos

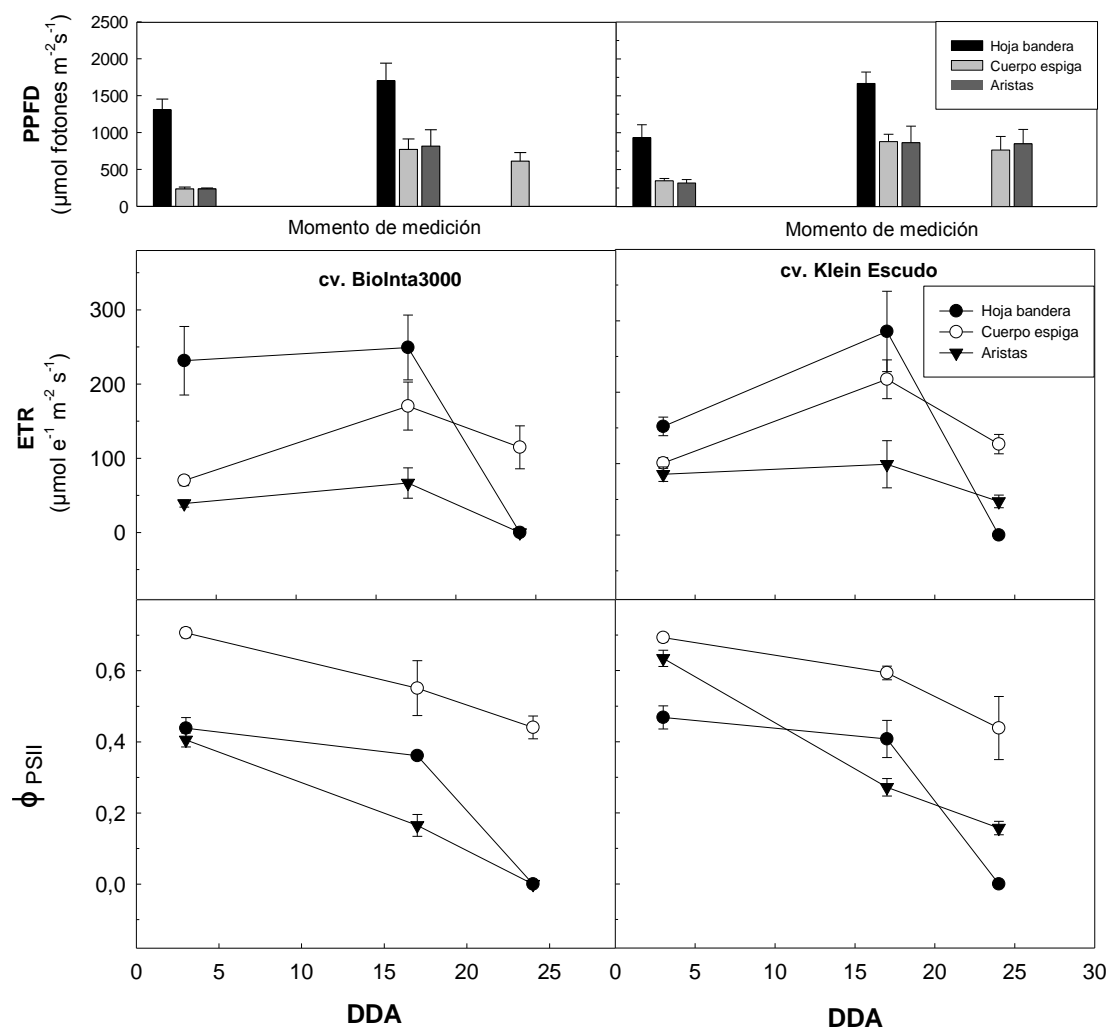
Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el Statistica 7 software (StartSoft, Inc). Las diferencias fueron analizadas por ANOVA y las comparaciones de medias se realizaron por el test LSD ( $p < 0,005$ ).

### 4.3. Resultados

#### 4.3.1. *Experimento (VII): Estudio de la fotosíntesis de la hoja bandera, del cuerpo de la espiga y de las aristas durante el llenado*

En la Fig. 4. 2 se muestran la tasa de transporte de electrones (ETR) de la hoja bandera, del cuerpo de la espiga y de las aristas de los cultivares cv. Biolnta 3000 y cv. Escudo en tres momentos durante el llenado de granos. Aunque al comienzo la ETR fue mayor en la hoja bandera que los órganos de la espiga (recordar que las mediciones son al mediodía) en ambos cultivares, más tarde en el llenado de granos se puede ver como la relación se invierte. Aproximadamente 20 DDA los valores de ETR del cuerpo de la espiga fueron mayores que los de la hoja bandera. Comparando las partes de la espiga, la ETR del cuerpo de la espiga fue mayor que el de las aristas durante todo el llenado de granos (con similares valores de PPFD incidentes; ver paneles superiores en Fig. 4. 2). Similar comportamiento se observó en los dos cultivares (cv. Biolnta 3000 y cv. Escudo Fig. 4. 2 panel superior derecha e izquierda respectivamente). Durante todo el llenado de granos la ETR de las aristas del cv. Escudo fue mayor que en el caso del cv. Biolnta 3000 (comparar triángulos en paneles superiores izquierdo y derecho).

En resumen, durante las mediciones de fluorescencia los órganos de la espiga (comparados entre sí) estuvieron expuestos prácticamente al mismo PPFD, y en las tres fechas de medición el cuerpo de la espiga registró mayores rendimientos cuánticos que las aristas.



**Fig. 4. 2. Tasa de transporte de electrones (ETR), eficiencia del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ) y PPFD (densidad de flujo fotónico fotosintético) durante el llenado de granos para los cultivares Escudo y Biolnta 3000 (experimento VII).** Se muestran los valores de hoja bandera (círculos negros), cuerpo de la espiga (círculos blancos) y aristas (triángulos negros) en tres momentos durante el llenado de granos (3, 17 y 24 días después de antesis, DDA). Panel superior: PPFD incidente en la hoja bandera (barra negra), cuerpo de la espiga (barra gris) y aristas (barra gris oscura) en cada momento de medición (3, 17 y 24 días después de antesis, DDA). Los valores son la media de cinco mediciones  $\pm$  s.e. Para más detalles ver Materiales y Métodos.

En la Fig. 4. 3. (panel superior) se muestra valores de clorofila para tres fechas durante el llenado de granos. Se puede ver que las aristas fueron el órgano de la espiga con mayor contenido de clorofila en las tres fechas de medición. También se puede observar que, aunque en las dos primeras fechas de medición las aristas del cv. Biolnta 3000 fueron las que más clorofila tuvieron, en la última etapa del llenado de granos el registro se invierte, siendo las aristas del cv. Escudo las que más clorofila registraron. En la Fig. 4. 4 se puede ver que en la última etapa del llenado de granos, el contenido de clorofila de las hojas (expresado en unidades de SPAD) se ha reducido prácticamente a cero.

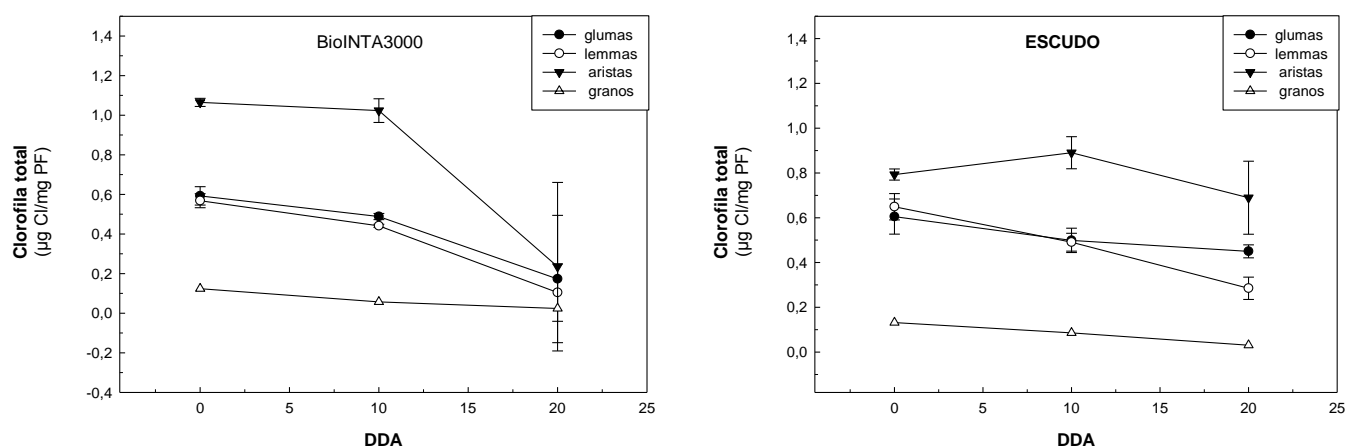
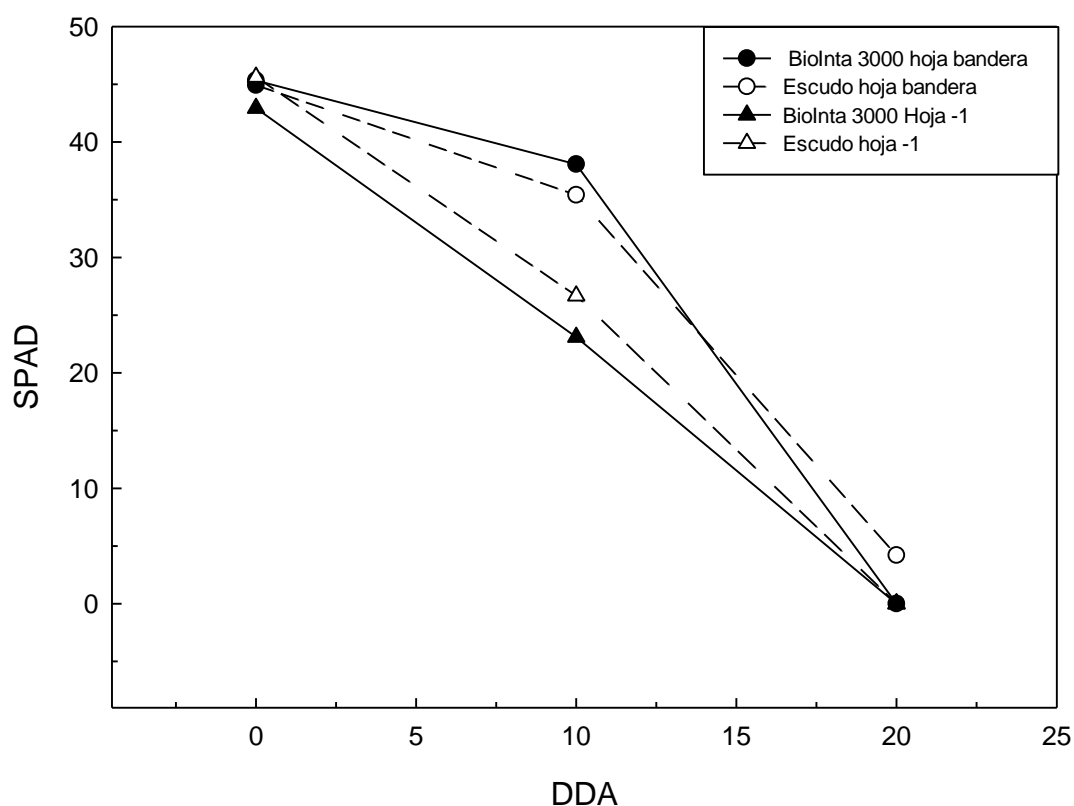


Fig. 4. 3. Contenido total de clorofila de glumas, lemmas, aristas y granos de los cvs. Biolnta 3000 (panel izquierdo) y Escudo (panel derecho) durante el llenado de los granos en el experimento VII.

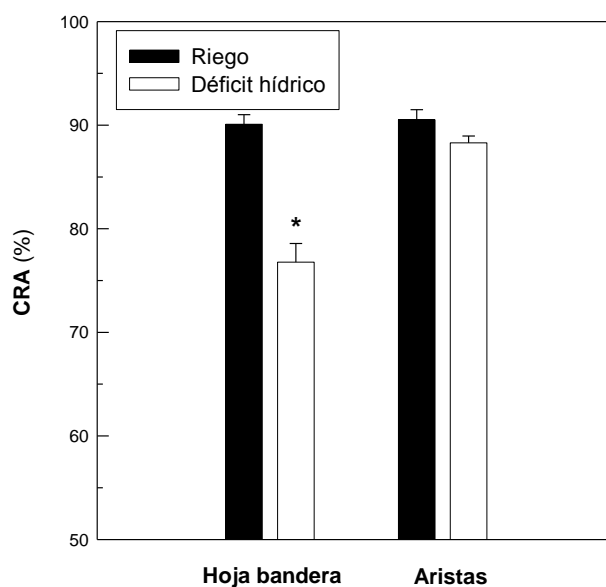


**Fig. 4. 4. Contenido de clorofila expresado en unidades de SPAD de los cultivares Biolnta3000 (símbolos negros) y Escudo (símbolos blancos). Se muestran los valores para la hoja bandera (círculos), y la inmediatamente inferior (hoja -1; triángulos).**

#### **4.3.2. Experimento (VIII): Respuesta diferencial de la hoja bandera versus aristas al déficit hídrico**

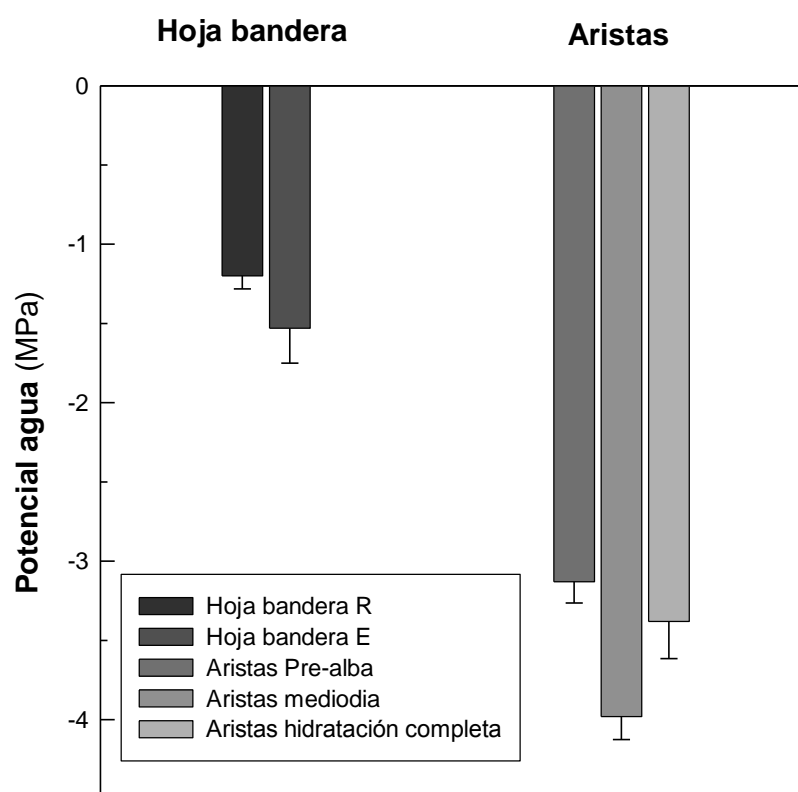
Tal como detallamos anteriormente, en este experimento se analizó la respuesta al déficit hídrico del contenido relativo de agua (CRA o 'RWC') y de la fotosíntesis de la hoja bandera y de las aristas. En la Fig. 4. 5 muestra el contenido relativo de agua de ambos órganos en plantas regadas (R) y en plantas estresadas (E). Claramente se ve que las aristas de las plantas E no reducen su CRA luego de 7 días de déficit hídrico. En contraste, la hoja

bandera de plantas E tiene una fuerte reducción del CRA (aproximadamente un 12% de reducción en las plantas E respecto a las plantas R).



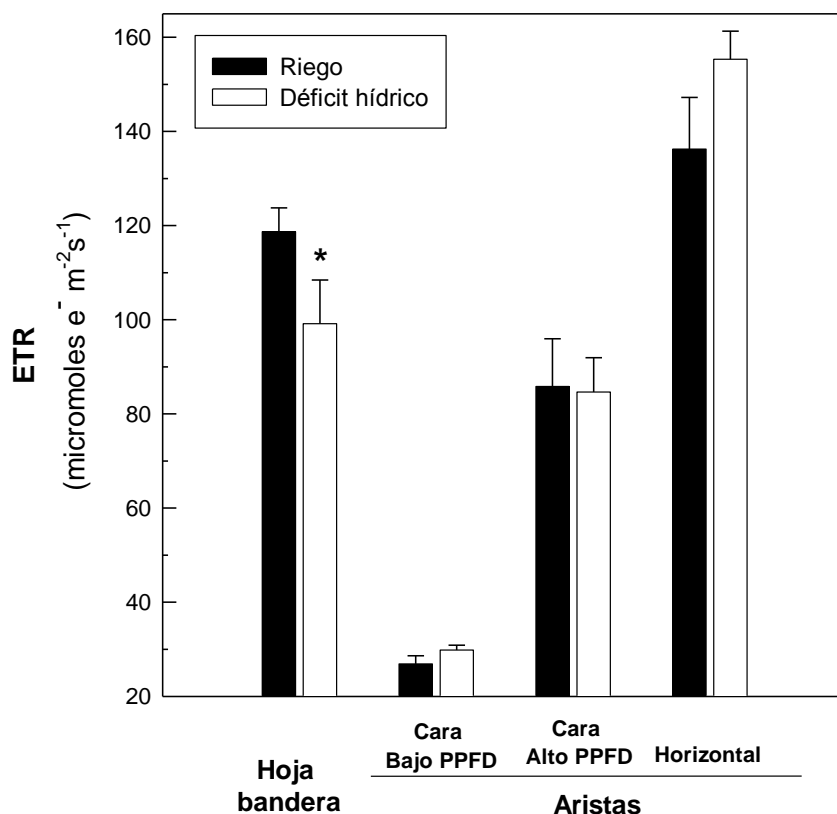
**Fig. 4. 5** Contenido relativo de agua (CRA) de hoja bandera y aristas en plantas regadas (R, barras negras) y en plantas con déficit hídrico (E, barras blancas) del experimento (VIII). Los valores son la media de cinco mediciones  $\pm$  s.e. Plantas de trigo pan cv. Chambergo crecidas en invernadero, para más detalles ver Materiales y Métodos.

Las medidas de potencial hídrico muestran que las aristas tienen menor potencial que la hoja bandera en plantas regadas (alrededor de - 4 MPa al mediodía). Como se mencionó más arriba, por razones técnicas no se pudieron realizar las mediciones de aristas en plantas estresadas. Las aristas muestreadas antes del amanecer y las que fueron completamente hidratadas tuvieron valores de potencial agua mayores que las muestreadas al mediodía, aunque aún mucho menores que los de la hoja bandera.



**Fig. 4. 6 Potencial agua (MPa) de la hoja bandera y aristas en plantas de trigo pan cv. Chambergo regadas (R) y sometidas a déficit hídrico (E), experimento (VIII).** Por razones técnicas las aristas solo pudieron ser medidas en plantas R, en tres condiciones: pre-alba mediodía y post-hidratación (aristas cortadas incubadas toda la noche en agua). Las plantas usadas crecieron en invernadero. Para más detalles ver Materiales y Métodos.

Consistente con lo hallado en los valores de CRA, se encontró que el ETR de la hoja bandera se redujo aproximadamente un 20% en plantas estresadas. Una correlación realizada entre la ETR y la tasa de asimilación neta ( $A_n$ ; medida por técnicas IRGA) del mismo cultivar mostró que una reducción del 20% de la ETR se corresponde con una reducción del ca. 50% de la  $A_n$  (Tambussi com. pers.).



**Fig. 4. 7 Tasa de transporte de electrones (ETR) de la hoja bandera y las aristas de la espiga de trigo panadero (cv. Chambergo), experimento (VIII).** Las mediciones se realizaron al mediodía 15 DDA en plantas con buen riego (R, barras negras) y con déficit hídrico (E, barras blancas). En el caso de las aristas se midió en tres posiciones: (1) vertical, en la cara de mayor PPFD incidente; (2) vertical, en la cara de menor PPFD y (3) horizontal. Las plantas fueron crecidas en macetas en un invernadero. Los valores son la media de cinco mediciones  $\pm$  s.e. Para más detalles ver Materiales y Métodos.

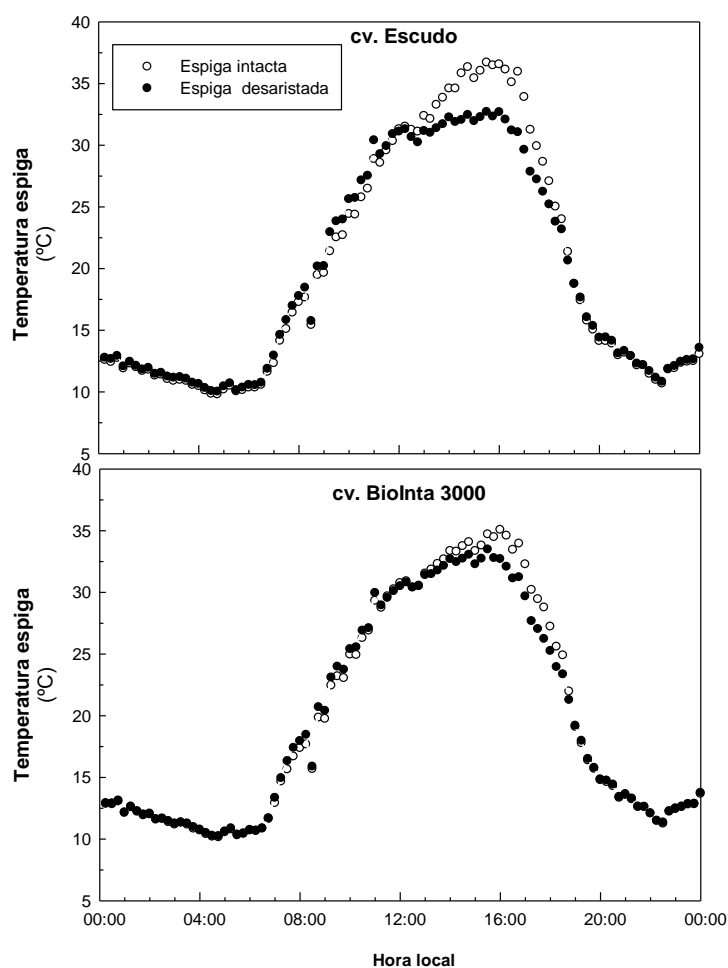
Como fue explicado anteriormente, debido a la posición erecta de las aristas, las mediciones de ETR de las aristas de realizaron con el sensor en tres posiciones. En posición vertical (tanto en la cara de bajo PPFD como en la cara de alto PPFD), la ETR de las aristas fue menor que el de la hoja bandera, pero no hubo diferencias entre plantas estresadas y regadas. En la posición horizontal (considerada como una medida de la capacidad fotosintética de las aristas, *i.e.* fotosíntesis a saturación de PPFD), la ETR de las aristas fue mayor que el de la hoja bandera, tanto en plantas E como R. De todos modos,

tampoco se encontraron diferencias entre la ETR de las aristas de plantas E y R.

#### **4.3.3. Experimento (IX): Análisis del patrón térmico en la espiga: rol de las aristas.**

En la Fig. 4. 8 se ve el curso diario de la temperatura de espigas intactas y espigas desaristadas registradas con las termocuplas. En el cv. Escudo (de aristas largas) durante la mañana se ve que las espigas intactas están algo más frías que las desaristadas (las diferencias alcanzan 1,5 °C en algunos momentos). Sin embargo, durante la tarde la temperatura fue sensiblemente mayor en las espigas intactas que en las desaristadas (aproximadamente 4°C de diferencia), con un punto de cruce que se da cerca del mediodía (ver Fig. 4. 8 panel superior). En el cv. BioInta 3000 (de aristas cortas) las diferencias entre espigas intactas y desaristadas son menores ( $\Delta^{\circ}\text{T}$  (intactas- desaristadas) aproximadamente - 0,5 y + 2 °C en la mañana y en la tarde respectivamente; ver Fig. 4. 8 panel inferior).

Como las aristas son órganos muy delgados, no es posible insertarles termocuplas para medirles la temperatura. Tal como fue explicado anteriormente, para analizar la temperatura de las aristas se tomaron imágenes por termografía de infrarrojos. A partir de las imágenes se observa en la Fig. 4. 9 que las aristas tienen mayor temperatura que el cuerpo de la espiga. La diferencia alcanza aproximadamente 3°C (comparar el falso color de cada parte, rojo en las aristas y azul en el cuerpo de la espiga; Fig. 4. 9).



**Fig. 4. 8** Curso diario de la temperatura de espigas intactas y desaristadas de los cultivares **cv. Biolnta 3000** (Panel inferior) y **cv. Escudo** (Panel superior) del **experimento IX**. La temperatura fue medida cada cinco minutos con sensores de termocupla de cobre-constantano insertados debajo de las glumas de las espigas. Cada línea es la media de cuatro espigas por tratamiento y por cultivar. Para más detalles ver Materiales y Métodos.

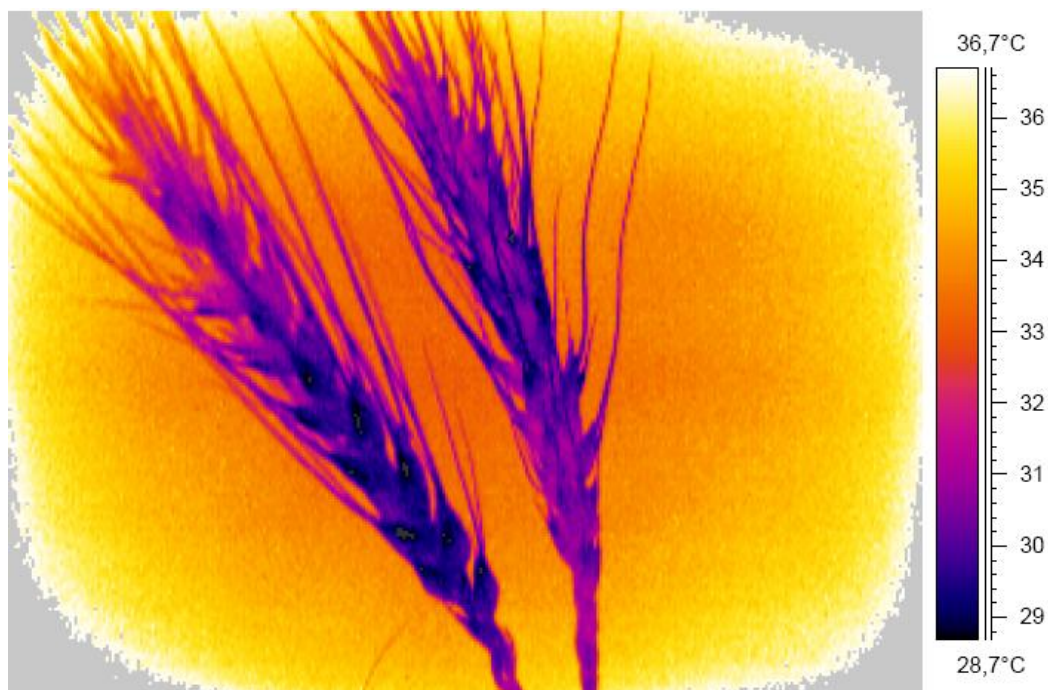
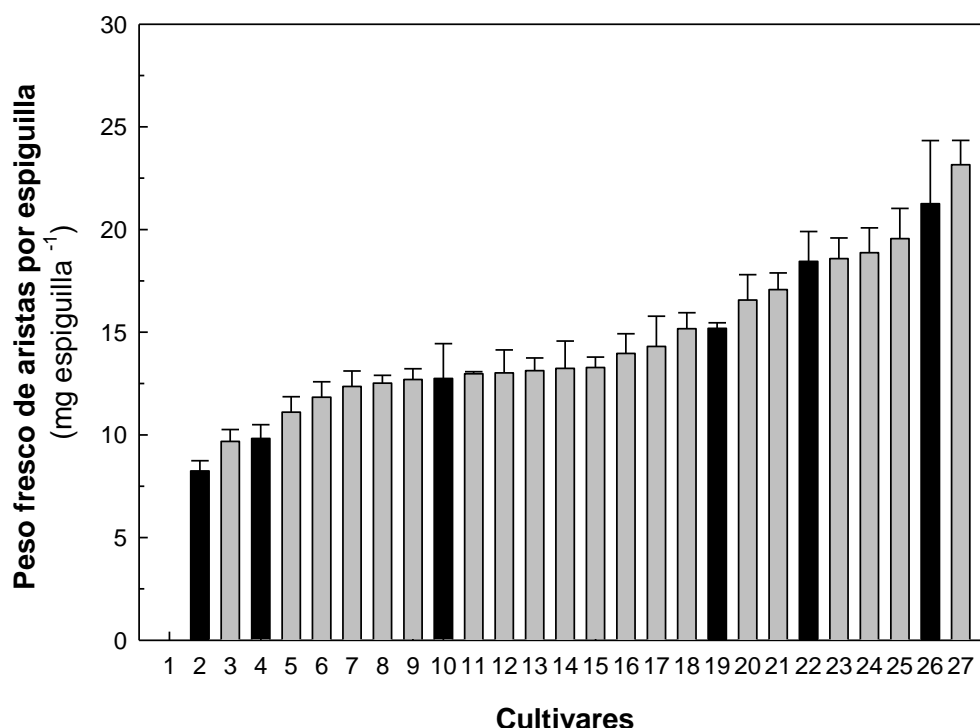


Fig. 4. 9 Fotografía térmica de la espiga del cv. Escudo. A la derecha se muestra la escala de temperaturas correspondiente a cada falso color.

#### **4.3.4. Experimento (X): Análisis de correlación entre el tamaño de aristas y la contribución al llenado en cultivares modernos de Argentina.**

De los 27 cultivares comerciales de Argentina analizados, sólo uno resultó ser místico y en el resto se observó variabilidad en el tamaño de aristas (ver Fig. 4. 10). El tamaño de aristas (PF de aristas por espiguilla) varió entre 8,2 y 23,15 mg de aristas.

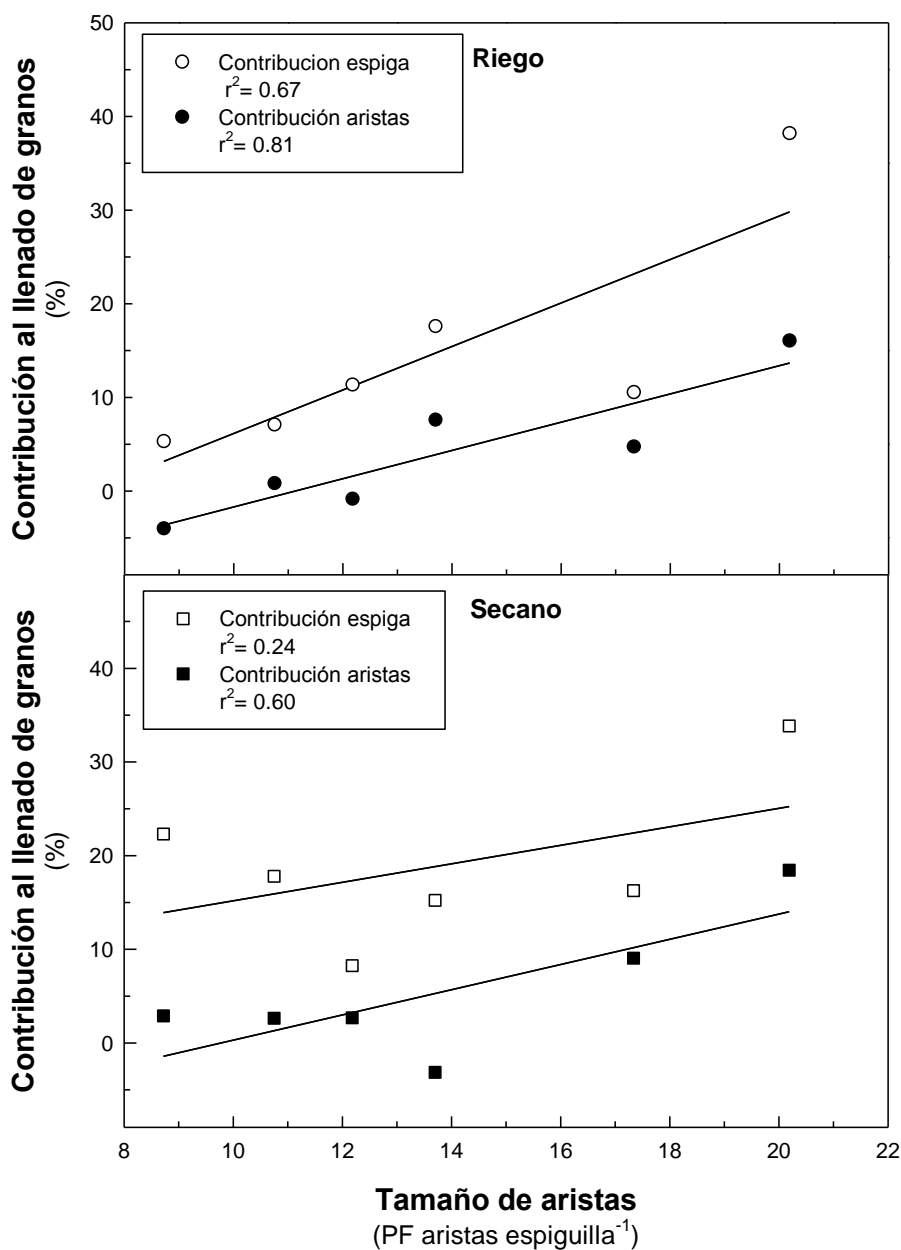
Luego de testear la existencia de variabilidad en el tamaño de aristas de espigas de cultivares argentinos de trigo, se analizó la relación de este carácter con la contribución de la espiga durante el llenado de granos.



**Fig. 4. 10** Tamaño de aristas de una serie de cultivares comerciales de trigo pan cultivados de Argentina (numerados de 1 a 27; los cultivares son detallados en ‘Materiales y métodos’ de este capítulo) correspondientes al experimento (X). Cada punto representa la media  $\pm$  s.e. de cinco espigas (del tallo principal). El tamaño de aristas fue cuantificado como el peso fresco (mg) de aristas por espiguilla. Las barras negras indican los seis cultivares elegidos para el análisis de contribución de la arista y la espiga al llenado de los granos. Para más detalles ver Materiales y Métodos.

#### *Contribución de las aristas y de la espiga al llenado de granos*

Para el estudio de la relación del tamaño de las aristas y su contribución al llenado de los granos se eligieron 6 cultivares, tratando de cubrir el rango de variabilidad del tamaño de aristas (PF aristas por espiguilla) observado en el análisis anterior (Fig. 4. 10). Se analizó la contribución de las aristas y de la espiga en condiciones de Riego y de Secano. En el tratamiento de riego se encontró una alta correlación del tamaño de aristas con la contribución de la espiga y con la contribución de las aristas al llenado de granos ( $r^2=0,66$  y  $r^2=0,81$  respectivamente). En el tratamiento de secano, sin embargo, las correlaciones fueron más débiles ( $r^2=0,25$  y  $r^2=0,59$ ; Fig. 4. 11).

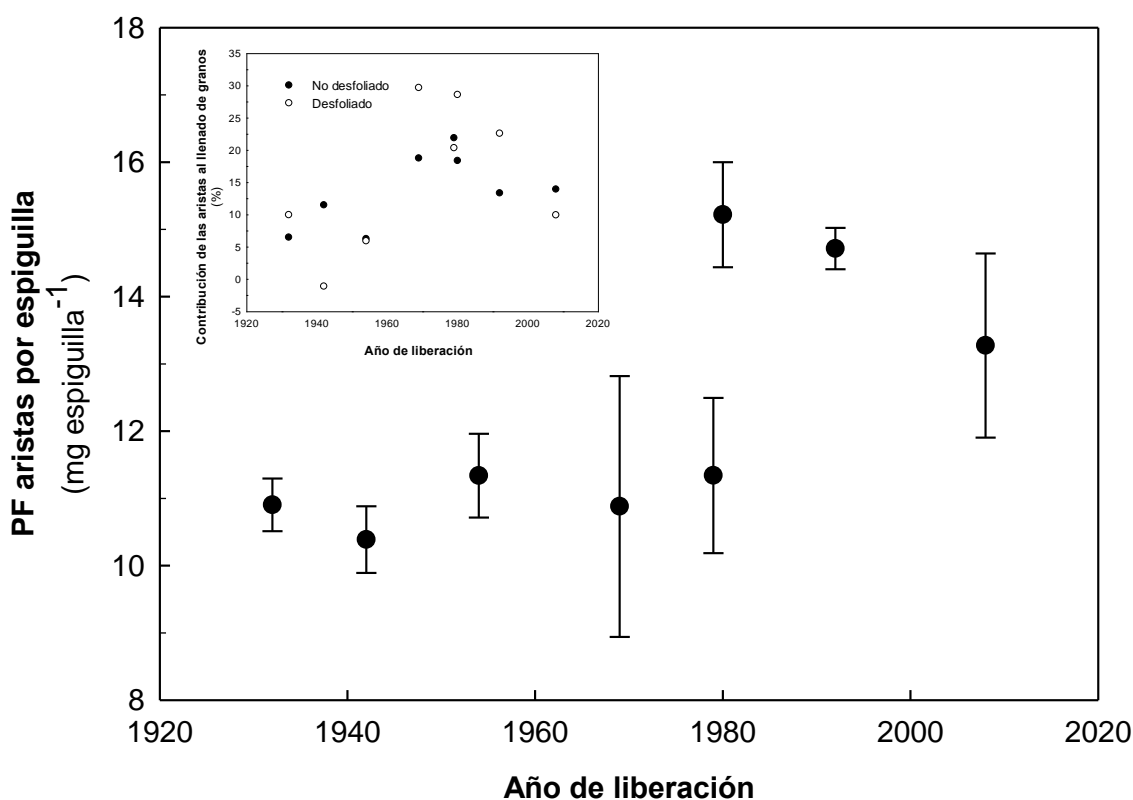


**Fig. 4. 11** Relación entre el tamaño de aristas *versus* la contribución de la espiga o la contribución de las aristas al llenado de granos en los 6 cultivares seleccionados del experimento (VII). El tamaño de aristas es expresado como mg de PF de aristas por espiguilla y la contribución de la espiga (círculos y cuadrados blancos) y de las aristas (círculos y cuadrados negros) es expresada como porcentaje (ver pág. 123). Panel superior: tratamiento de Riego. Panel inferior: tratamiento de Secano. Para más detalles ver Materiales y Métodos.

Los tratamientos de desaristado y de sombreado de espiga, mediante los cuales se realizó el cálculo de la contribución de las aristas y de la espiga, no generaron reducción en el número de granos por espiga, en cinco de los seis cultivares usados para el análisis. El cv. Guapo fue en el único donde se registró reducción. Los tratamientos de desaristado y de sombreado de espiga afectaron el peso individual de granos en todos los cultivares utilizados.

#### **4.3.5. Experimento (XI): Evaluación del tamaño de las aristas en variedades antiguas y modernas de trigo y su relación a la contribución (estudio retrospectivo).**

En la Fig. 4. 12 se muestra el tamaño de aristas (expresado como PF de aristas espiguilla<sup>-1</sup>) y la contribución de las aristas *versus* el año de liberación de los cultivares. Si bien no se observa una clara tendencia de cambio en el tamaño de las aristas a lo largo de la mejora genética, en términos generales se ve que los cultivares modernos tienen aristas de mayor tamaño. La contribución de las aristas (ver inserto en Fig. 4. 12) también parece ser mayor en los cultivares modernos (comparar la contribución antes y después de 1980), pero no se encontró una correlación significativa entre el tamaño de las aristas y la contribución de las aristas (datos no mostrados).



**Fig. 4. 12** Tamaño de las aristas (expresado como mg de PF de aristas espiguilla<sup>-1</sup>) y contribución de las aristas al llenado de granos (expresado como %; inserto) versus el año de liberación de ocho cultivares incluidos en el estudio retrospectivo, experimento (XI). Este set de cultivares es una serie histórica que incluye cultivares liberados entre 1932 y 2008 en Argentina. La contribución de las aristas se calculó como se menciona en Materiales y Métodos. En el inserto se muestran los valores de la contribución de aristas en plantas desfoliadas (círculos blancos) e intactas (*i.e.* no desfoliadas; círculos negros) a lo largo de los años de liberación de los cultivares. Cada valor es la media de tres parcelas y en cada parcela se muestrearon 7 espigas por tratamiento.

#### 4.4. Discusión

Tal como fue expuesto más arriba, considerando sólo la asimilación de CO<sub>2</sub> atmosférico, la contribución de las aristas a la fotosíntesis total de la espiga ronda entre el 40 y el 50% dependiendo del cultivar (Blum 1985b). Las aristas incrementan el área de la espiga (entre un 36-59%) lo que significa un incremento en la intercepción de luz del 4% (Motzo & Giunta 2002).

Una de las razones que ha recibido atención en las aristas es el retraso de la senescencia que presentan con respecto a la hoja bandera (Li et al. 2006). En algunos casos se ha reportado que los cloroplastos de las aristas permanecen intactos y activos durante el llenado de granos, a diferencia de los cloroplastos de la hoja bandera que son degradados más tempranamente durante la maduración de los granos (Li et al. 2006). La senescencia demorada respecto de la hoja bandera ha sido también reportada en otros órganos de la espiga (Martinez et al. 2003). Sin embargo se ha sugerido que determinadas condiciones climáticas (e.g. vientos cálidos; Motzo & Giunta 2002) pueden inducir la senescencia prematura de las aristas y afectar su contribución durante el llenado de granos. En nuestros resultados, por ejemplo, las aristas del cv. BioInta 3000 tienen menor ETR que las de cv. Escudo y senescen antes durante el llenado de granos (ver Fig. 4. 2). En el capítulo 2 se demostró que la contribución del cv. BioInta 3000 (aristas cortas) es menor que la del cv. Escudo (aristas largas), aunque en ese trabajo no podemos afirmar si esta asociación es causal al tamaño de aristas o meramente coincidental. Las mediciones de ETR que se presentan en este capítulo, muestran diferencias en la actividad fotosintética de estos órganos si se comparan ambos cultivares, lo cual podría estar involucrado en las diferentes contribuciones al llenado (más allá del tamaño de las aristas). En el cv. Escudo, las aristas mantienen su actividad fotosintética más tiempo durante el llenado de granos (comparado con la hoja bandera), lo cual es consistente con la mayor emisión de oxígeno de las aristas por Li et al. (2006). Estos investigadores registraron que la tasa de emisión de oxígeno (como un indicador de actividad fotosintética) de las aristas, casi duplicaba la de la hoja bandera en la última etapa de maduración

del grano. Sin embargo, tal como mencionamos más arriba, este no parece ser un comportamiento universal, en particular si se produce senescencia prematura de las aristas.

La asimilación del cuerpo de la espiga (glumas, lemmas, pericarpio; incluyendo fijación de CO<sub>2</sub> atmosférico y la re-fijación de CO<sub>2</sub> liberado por los granos) parece ser también cuantitativamente un proceso importante (Tambussi et al. 2007). En los dos cultivares analizados en este capítulo (*i.e.* cv Escudo y BioInta 3000) se encontraron mayores valores de ETR en el cuerpo de la espiga que en las aristas (ver Fig. 4. 2), apoyando lo dicho anteriormente. Dado que el PPFD incidente era igual en ambos, el mayor rendimiento cuántico y mayor ETR podría estar relacionado a que en el cuerpo de la espiga hay una fuente de difusión de CO<sub>2</sub> proveniente desde los granos.

Los diferentes patrones de senescencia en estos órganos podrían explicar los mayores valores de ETR de las partes de la espiga con respecto a la hoja bandera hacia el final del llenado de granos (ver datos de clorofila; de las partes de la espiga Fig. 4. 3 y de hoja bandera Fig. 4. 4). Los porcentajes de reducción de clorofila en hoja bandera son mayores que los porcentajes de reducción de clorofila en la espiga: las glumas conservan el 54 y 74% de la clorofila al final del llenado de granos (cv. BioInta3000 y cv. Escudo respectivamente) y las aristas el 40 y 87% (cv. BioInta 3000 y cv. Escudo respectivamente), mientras que para ese momento la hoja bandera perdió toda su clorofila por senescencia. Además, dado que las mediciones de ETR se hicieron a mediodía, y relacionando con lo que se ve en la figura Fig. 4. 7, las diferencias en la ETR entre espiga y hoja bandera (hacia el final de llenado) podrían ser aún mayores en horarios con baja inclinación solar, donde la espiga recibirá un mayor PPFd.

#### *Las aristas bajo déficit hídrico*

En el trigo existe un cambio ontogénico de estructuras progresivamente más esclerófilas, donde los órganos tardíos en la fenología presentan menor

contenido de agua y más estructuras de tipo xeromórfico (Tambussi et al. 2005). Las aristas poseen claramente una histología xeromórfica con predominio de tejidos de tipo esclenquimático (Li et al. 2006; Xing-Feng et al. 2010), característica que parece otorgarle cierta tolerancia al déficit hídrico (Tambussi et al. 2005). La deposición de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) en aristas ha sido reportada también como importante para la tolerancia al déficit hídrico (Peleg et al. 2010; Ma 2004) probablemente disminuyendo la pérdida de agua a través de la cutícula (Ma 2004). Las aristas de los trigos domesticados contienen por encima de un 19 % de sílice (en base a PS) comparado con los trigos silvestres que apenas llegan al 7%, esto sugiere que ha existido una presión de selección asociada al proceso de domesticación (Peleg et al. 2010b). Comparado con otros órganos (hoja bandera, glumas y lemmas) las aristas tienen el menor porcentaje de agua en sus tejidos (Tambussi et al. 2005). Aquí se mostró que las aristas son capaces de mantener mayor CRA (= RWC) que la hoja bandera bajo déficit hídrico (ver Fig. 4. 5). El potencial agua de las aristas fue claramente menor al de la hoja bandera (entre -3 y -4 MPa) aún en plantas bien regadas. Las mediciones de aristas en pre-alba (condición en la que no hay transpiración significativa) y completamente hidratadas mostraron valores bajos de potencial agua (ver Fig. 4. 6). Esto podría sugerir que las aristas están pre-adaptadas a vivir con potenciales hídricos bajos en sus tejidos, incluso estando bien hidratadas. Además, comparado con la hoja bandera y consistente con las diferencias observadas en el RWC, en las aristas también se observó una mayor actividad fotosintética (ETR) en plantas estresadas.

#### *Las aristas y su posible rol afectando la temperatura de la espiga*

La interacción entre la presencia de aristas y el rendimiento es investigado desde hace tiempo y se conoce que existe cierta efecto, aunque no se entiendan las bases fisiológicas. Hay contradicciones en la literatura acerca de los beneficios o penalidades de las aristas sobre el rendimiento (Blum 1985b; Motzo & Giunta 2002; Martin et al. 2003; Weyhrich et al. 1994), ver citas en Tambussi et al. 2007; Bort et al. 1994; Foulkes et al. 2007; Mc Kenzie,

1972). En Olugbemi & Bush (1987) describieron como variaba el rendimiento en isolíneas con y sin aristas, crecidas en sitios con diferente temperatura durante el llenado de granos. Las isolíneas aristadas alcanzaron los mayores rendimientos en el ambiente con temperatura entre 16-21 °C, rendimiento menor a 27-21°C y el ambiente donde alcanzaron los menores rendimientos fue el de 10-15°C. Los autores concluyeron que las aristas no siempre incrementan los rendimientos a temperaturas supra óptimas.

En nuestro estudio, las aristas claramente incrementaron la temperatura de la espiga después del mediodía. Esto se observó principalmente en el cv. Escudo (el cual posee aristas largas; ver Fig. 4. 8). Por la mañana, sin embargo se encontró que las espigas intactas (*i.e.* no desaristadas) estaban algo más frías que las espigas desaristadas. Este rol aparentemente contradictorio de las aristas (enfriando por la mañana y calentando por la tarde) podría ser explicado por el cierre de los estomas al medio día, aunque no poseemos datos que apoyen esta afirmación. La pérdida transpiratoria de calor sensible que se produce por la mañana podría reducirse o desaparecer al cerrarse los estomas al mediodía, proceso bien documentado en hojas (Moneveux 2003). La densidad estomática registrada en aristas sugiere la idea del importante efecto transpiratorio (Tambussi et al 2005), aunque la tasa transpiratoria real (expresada en base a área superficial) es difícil de cuantificar dadas las características irregulares de este órgano. Al menos se conoce que la densidad estomática de las aristas supera significativamente la de la hoja bandera (Li et al. 2006; y en Tambussi et al. 2005).

A la tarde, las aristas parecen calentar a las espigas, pero desconocemos la base mecánica de este comportamiento. El incremento de la absorción de energía, (Motzo & Giunta 2002) y cambios en la pérdida convectiva de calor son procesos que podrían estar relacionados. Nuestros resultados están al menos parcialmente en discordancia con lo encontrado por Motzo & Giunta (2002) en trigo duro (*T. turgidum L. var. Durum*), (mediciones realizadas por la mañana y por la tarde), donde el canopeo de espigas

aristadas mantiene menores temperaturas que el canopeo de espigas sin aristas. Panozzo et al. (1999), en cambio, registrando la temperatura durante todo el día, encontró que los cultivares aristados tenían mayores temperaturas que los sin aristas, coincidiendo con nuestros resultados. Las discrepancias de estos resultados pueden tener diversas causas, tanto genotípicas como ambientales. La arquitectura de las aristas es un aspecto poco explorado y nosotros hemos observado importantes variaciones en el ángulo de inserción (aunque no fue cuantificado, observaciones personales sugieren que las aristas de cv. Biolnta 3000 y cv. Escudo presentan distinto ángulo de inserción). Puede ser interesante explorar en el futuro qué rasgos están implicados en la intercepción de la radiación (v.g. ángulo de las aristas, reflectancia por diferente contenido de sílice u otras causas). Son necesarias futuras investigaciones para ahondar en este aspecto, por ejemplo, el ángulo de inserción de estos órganos podría afectar tanto la intercepción de radiación como la pérdida convectiva de calor.

En definitiva, si bien el aumento que producen las aristas sobre la temperatura del cuerpo de la espiga parece ser importante, el mecanismo subyacente es desconocido y merecería de más estudios al respecto.

Más allá de la explicación mecánica implicada, es claro que el efecto de las aristas sobre la temperatura de las espigas podría tener varias consecuencias. En primer lugar la relación negativa que existe entre la temperatura del canopeo durante el llenado de granos (por encima de 15°C) y el peso de granos en cereales es bien conocida (Savin 2010; Ayeneh et al. 2002), donde están implicados cambios en la tasa y duración de llenado y senescencia de tejidos fotosintéticos (Savin 2010). En segundo lugar, una mayor temperatura está relacionada con aumento de la fotorrespiración (von Caemmerer 2000) y por ende una menor asimilación neta de CO<sub>2</sub> en las partes verdes de la espiga. El impacto de este efecto deletéreo de las aristas sobre el peso de granos parecería contrarrestar (al menos parcialmente) el efecto benéfico de la presencia de aristas, (aumentando el área fotosintética y por ende el total de CO<sub>2</sub> asimilado) en la espiga. Así, a pesar de la mayor actividad

fotosintética de las aristas (ver Fig. 4. 2) del cv. Escudo (comparado con el cv. Biolnta 3000) la presencia de aristas podría tener efectos deletéreos. Sin embargo, si consideramos la mayor contribución al llenado de granos del cv. Escudo (reportada en el Capítulo 2), los efectos positivos de las aristas en este cultivar parecerían ser superar el efecto negativo sobre la temperatura.

#### *Fotosíntesis de las aristas y su contribución al llenado de granos*

Tal como dijimos en la introducción de este capítulo, aunque el rol fotosintético de las aristas ha sido estudiado por mucho tiempo (Jiang et al. 2006; Li et al. 2006; Olugbemi et al. 1976), su contribución real al llenado de granos aún es controversial (McKenzie, 1972; Tambussi et al. 2007; y referencias ahí citadas). La presencia de aristas largas ha sido parte del ideotipo común de trigo, particularmente en condiciones estresantes (Reynolds & Tuberosa 2008), aunque no se conoce evidencia de una correlación (más que una mera asociación) entre tamaño de aristas y su contribución al llenado de granos. Ali et al. (2010) encontraron una disminución del peso de granos de espigas desaristadas, pero no registraron correlación alguna entre el largo de las aristas y el porcentaje de reducción del peso de grano. Existen reportes donde la presencia de aristas ejerce un efecto positivo sobre el rendimiento (Motzo & Giunta 2002) y otros donde el efecto es detrimental (McKenzie, 1972). Además, la repercusión positiva o neutra de las aristas sobre el rendimiento parece estar influenciada por el 'fondo' ('*background*') genético (Weyhrich et al. 1994). Por otra parte, existen trabajos donde se ha correlacionado negativamente la presencia de aristas con el número granos (Teich 1982; Bingham 1969; Bort et al. 1994 en cebada). Se ha especulado que un mayor tamaño de aristas (mayor requerimiento de asimilados durante su formación) competirían más fuertemente durante la determinación del número de granos.

En los resultados de este capítulo se muestra que, aunque la correlación entre el tamaño de las aristas y contribución de la espiga fue variable (dependiente del tratamiento, Riego o Secano), la correlación entre el tamaño de las aristas y la contribución de las aristas al llenado de granos fue relativamente alta ( $r^2 = 0,82$  y  $0,6$  para condiciones de Riego y Secano

respectivamente). Motzo & Giunta (2002) encontraron que en trigo duro, la presencia de aristas tiene un efecto favorable sobre el rendimiento, pero que bajo condiciones de déficit hídrico su efecto podría ser irrelevante debido a la senescencia prematura, tal como fue discutido en la primera parte de esta discusión (ver Pág. 34 de este capítulo). Así, aunque la fotosíntesis de las aristas parece ser tolerante a deficiencias hídricas (Fig. 4. 5; Fig. 4. 7), su efecto positivo se traducirá en efectos ventajosos sobre el peso de granos sólo si no sufre senescencia prematura.

En definitiva, las discrepancias entre estudios en cuanto al efecto de las aristas sobre el rendimiento, podrían deberse (además de diferencias genóticas) a: (I) por un lado, el incremento del área fotosintética de la espiga (Weyhrich et al. 1994) podría ser (*per se*) una característica positiva para el llenado de granos si existiera limitación de asimilados (i.e. limitación por fuente); (II) la aparente tolerancia de las aristas al déficit hídrico en trigo duro (Tambussi et al. 2007) y en trigo pan (Fig. 4. 5 y Fig. 4. 7), (III) la presencia de aristas ha sido relacionada tanto con incrementos (Panozzo et al. 1999) como con reducciones (Motzo & Giunta 2002) en la temperatura del canopeo, y su correspondiente efecto en el llenado de granos (IV) la senescencia prematura de las aristas bajo ciertas condiciones (por ejemplo vientos cálidos) ha sido reportado como un efecto negativo (Motzo & Giunta 2002) y (V) hay algunos trabajos donde la presencia de aristas tienen efectos negativos en términos del número de granos (en cebada, Bort et al. 1994 y en trigo pan, Weyhrich et al. 1994). Estos efectos contrastantes de las aristas (positivos y negativos sobre el peso de granos) podrían interaccionar en formas complejas, determinando finalmente si el resultado tendrá un efecto positivo o negativo sobre el peso total de granos. Son necesarias más investigaciones para determinar estas interacciones.

### *Las aristas en el análisis retrospectivo*

No conocemos estudios anteriores sobre el posible cambio de la contribución de las aristas al llenado de granos a lo largo de la mejora genética. Sin embargo, dadas las particularidades de las aristas tratadas en las secciones anteriores, hay razones para pensar que el mayor tamaño de aristas es un carácter que ha sido seleccionado durante la mejora del rendimiento. Además se encontró que la presencia de aristas disminuye las infecciones de áfidos en cultivos, y se propuso la presencia de aristas como un carácter a seleccionar (Acreman & Dixon 1986). En el presente trabajo, aunque no encontramos una tendencia clara en el tamaño de las aristas a través de los años de liberación, observamos un mayor PF de aristas en los cultivares modernos (ver Fig. 4. 12). Los cultivares liberados al mercado antes de 1980 tienen un tamaño de aristas menor a 12 mg de aristas espiguilla<sup>-1</sup> y si consideramos los 27 cultivares modernos analizados (experimento XI), ca. 20 de éstos, tienen valores por encima de ese valor. Así, aunque no se observó un incremento progresivo del tamaño de las aristas a lo largo de los años de liberación, el PF de aristas parece ser mayor en los cultivares de trigo pan modernos de Argentina. En un estudio retrospectivo previo (capítulo 2 de esta tesis, ver pág. 17) donde se analizaron cultivares liberados desde 1920 (básicamente los mismos de esta serie histórica) se encontró un incremento en la contribución total de la espiga de los cultivares modernos argentinos. La correlación entre el tamaño de las aristas y la contribución de la espiga (total) fue moderada en esa serie histórica ( $r^2 = 0,46$  y  $0,43$  para plantas no desfoliados y desfoliadas respectivamente; ver Fig. 3.13 del experimento V pág. 97). En los resultados de la serie histórica de este capítulo encontramos una baja correlación entre el tamaño de aristas y la contribución de aristas (datos no mostrados). Aunque esto podría deberse al limitado rango de variabilidad de tamaño de aristas del conjunto de cultivares históricos empleados en el análisis, los resultados presentados aquí sugieren que el tamaño de aristas tendría solo una relevancia relativa en el incremento registrado en la contribución de la espiga al llenado de granos a lo largo de la mejora genética.

#### 4.5. Conclusiones

En este capítulo hemos reportado que: (1) durante el final del llenado de los granos, las partes de la espiga (aristas y particularmente el cuerpo de la espiga, es decir glumas y lemmas) podrían tener mayor actividad fotosintética que la hoja bandera; (2) la presencia de aristas podría tener un efecto levemente favorable (*i.e.* enfriando) sobre la temperatura de la espiga durante la mañana, pero deletéreo (*i.e.* aumentando la temperatura de la espiga) después del mediodía; (3) una característica positiva de las aristas es su “tolerancia” al déficit hídrico, manteniendo un CRA y una ETR mayor que la hoja bandera bajo sequía; (4) encontramos una correlación positiva (moderada bajo condiciones de secano) entre el tamaño de las aristas y la contribución de la espiga durante el llenado de granos y (5) en el análisis retrospectivo de los cultivares de trigo pan de Argentina no encontramos una clara tendencia a lo largo de la mejora en el tamaño de las aristas, ni de la contribución de las aristas al llenado de los granos.

## **Bibliografía**

- Abebe, T., Wise, R.P. & Skadsen, R.W., 2009. Comparative Transcriptional Profiling Established the Awn as the Major Photosynthetic Organ of the Barley Spike While the Lemma and the Palea Primarily Protect the Seed. *The Plant Genome*, 2(3), pp.247–259.
- Acreman, T.M. & Dixon, A.F.G., 1986. The role of awns in the resistance of cereals to the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Annals of Applied Biology*, 109(2), pp.375–381. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.1986.tb05329.x> [Accessed October 24, 2012].
- Ali, A.M. et al., 2010. Source-Sink Relationship between Photosynthetic Organs and Grain Yield Attributes during Grain Filling Stage in Spring Wheat (*Triticum aestivum*). *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY*, pp.509–515.
- Ayeneh, a et al., 2002. Comparison of leaf, spike, peduncle and canopy temperature depression in wheat under heat stress. *Field Crops Research*, 79(2-3), pp.173–184. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429002001387>.
- Blum, A., 1985a. Photosynthesis and Transpiration in Leaves and Ears of Wheat and Barley Varieties. *Journal of Experimental Botany*, 36(3), pp.9–10.
- Blum, A., 1985b. The Effect of Heat Stress on Wheat Leaf and Ear Photosynthesis 1. *Journal of Experimental Botany*.
- Bort, J. et al., 1994. Role of awns in ear water-use efficiency and grain weight in barley. *Plant physiology*.
- Evans, T.L. et al., 1972. Effect of awns and drought on the supply of photosynthate and its distribution within wheat ears. , pp.67–76.
- Foulkes, M.J. et al., 2007. Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat. *Field Crops Research*, 103(1), pp.11–24. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429007000718> [Accessed August 2, 2012].
- Inskip, W.P. & Bloom, P.R., 1985. Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in. , (14), pp.483–485.

- Jiang, Q.Z. et al., 2006. Awn contribution to gas exchanges of barley ears. *Photosynthetica*, 44(4), pp.536–541. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s11099-006-0067-9>.
- Li, X. et al., 2006. Awns play a dominant role in carbohydrate production during the grain-filling stages in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum*, 127(4), pp.701–709. Available at: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.2006.00679.x> [Accessed July 26, 2012].
- Ma, J.F., 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses Role of Silicon in Enhancing the Resistance of Plants to Biotic and Abiotic Stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, (November 2012), pp.37–41.
- Martin, J.N. et al., 2003. Contributions of Leaf Rust Resistance and Awns to Agronomic and Grain Quality Performance in Winter Wheat. *Crop Science*, 43(5), p.1712. Available at: <https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/43/5/1712>.
- Motzo, R. & Giunta, F., 2002. Awnedness affects grain yield and kernel weight in near-isogenic lines of durum wheat. , 53(12), p.1293.
- Olugbemi, L.B. & Bush, M.G., 1987. The influence of temperature on the contribution of awns to yield in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, pp.231–240.
- Peleg, Z. et al., 2010a. Genetic control over silica deposition in wheat awns. *Physiologia plantarum*, 140(1), pp.10–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20444192> [Accessed November 2, 2012].
- Peleg, Z. et al., 2010b. Genetic control over silica deposition in wheat awns. *Physiologia plantarum*, 140(1), pp.10–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20444192> [Accessed November 2, 2012].
- Reynolds, M. & Tuberosa, R., 2008. Translational research impacting on crop productivity in drought-prone environments. *Current opinion in plant biology*, 11(2), pp.171–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18329330> [Accessed August 13, 2012].
- Savin, R., 2010. Estrés térmico y calidad en cereales de invierno.
- Tambussi, E. a, Nogués, S. & Araus, José Luis, 2005. Ear of durum wheat under water stress: water relations and photosynthetic metabolism. *Planta*, 221(3), pp.446–58. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15645303> [Accessed November 2, 2012].

Tambussi, E.A., Bort, J. & Araus, J.L., 2007. Water use efficiency in C 3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Annals of Applied Biology*, 150(3), pp.307–321. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.2007.00143.x> [Accessed August 17, 2012].

Weyhrich, R.A., Carver, B.F. & Smith., E., 1994. Effects of awn suppression on grain yield and agronomic traits in hard red winter whea. *Crop Science*.

Xing-Feng, L., Bin, D. & Hong-gang, W., 2010. Awn anatomy of common wheat ( *Triticum aestivum* L .) and its. , 63(4), pp.391–397.

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

### **Conclusiones generales de la Tesis**

En base a las investigaciones llevadas a cabo en la presente Tesis Doctoral, y atendiendo a los aspectos discutidos en los capítulos precedentes, podemos formular las siguientes conclusiones generales:

- El método de sombreado de la espiga ('encapuchado') no produce aumentos artefactuales en la temperatura de la espiga y convalidamos la técnica mediante otros métodos (reducción de la irradiancia con medias sombras y mediante una aproximación farmacológica con un inhibidor del fotosistema II)
- En condiciones de disminución de fuente durante el llenado de granos la fotosíntesis de la espiga aumenta su contribución en términos relativos. En condiciones sin limitación de fuente la espiga también realiza un aporte importante durante el llenado de granos.
- Durante el mejoramiento genético del rendimiento, la contribución de la espiga se ha incrementado analizando un set de cultivares argentinos antiguos y modernos (análisis retrospectivo).
- En este análisis retrospectivo se observa una fuerte correlación negativa entre el peso de tallos en antesis y la contribución de la espiga al llenado de granos.
- La contribución de asimilados de pre antesis acumulados en tallo parece haber disminuido con la mejora.
- La incorporación de los alelos de enanismo podrían estar relacionados con el incremento de la contribución de la espiga, aunque las evidencias no son concluyentes en este sentido.
- Las aristas muestran 'tolerancia' al déficit hídrico (v.g. mejor estado hídrico, mantenimiento de la fotosíntesis) al compararla con la hoja bandera.
- En cultivares modernos argentinos de trigo pan existe variabilidad genética en el carácter tamaño de aristas.
- Se observó una correlación positiva entre el tamaño de aristas y las contribución fotosintética de la espiga al llenado de los granos

- Las aristas afectan la temperatura de la espigas, pudiendo tener un efecto 'antagónico' al efecto positivo que las aristas poseen en el llenado.
- El incremento de la contribución de la espiga observado en el análisis retrospectivo no parece ser explicado por un aumento paralelo en el tamaño de las aristas.