

¿CÓMO AFECTAN LOS GENES DE SENSIBILIDAD AL FOTOPERIODO PPD-1 AL DESARROLLO DEL TRIGO A ANTESIS?

Thomas Pérez-Gianmarco^{1*}, Gustavo Slafer², Fernanda González^{1,3}

Palabras clave: Fenología, ontogenia, adaptación

La sensibilidad al fotoperiodo afecta la adaptación del trigo al ambiente al modificar: (i) la fecha de antesis, (ii) la duración de las etapas vegetativa y reproductiva previas a antesis, y (iii) la generación de estructuras durante dichas etapas. Utilizando líneas isogénicas para genes de sensibilidad al fotoperiodo (Ppd-1) se observó que el orden de insensibilidad para todas las etapas estudiadas fue Ppd-D1a>Ppd-A1a>Ppd-B1a. No se detectó especificidad de ningún alelo con alguna etapa particular, ni tampoco efectos aditivos entre los alelos.

INTRODUCCION

El rendimiento en grano potencial (i.e. sin restricciones de agua, nutrientes ni adversidades bióticas) se encuentra asociado (i) al grado de adaptación dado por la relación entre las condiciones ambientales y ciclo ontogénico, particularmente por la fecha de antesis que permita exponer al cultivo a menores niveles de estrés en las etapas más críticas para la generación del rendimiento y (ii) al rendimiento potencial genético que depende de los cultivares utilizados.

El ciclo ontogénico está marcado por cambios morfológicos y fisiológicos tanto externos como internos. Basándose en dichos cambios, se puede dividir el ciclo hasta antesis en etapas: vegetativa (EVE) durante la cual se producen los primordios foliares, reproductiva temprana (ERTE) durante la cual se generan los primordios de espiguillas y reproductiva tardía (ERTA) durante la cual se da (i) la diferenciación y muerte de primordios florales, estableciéndose el número de flores fértiles que pueden ser fecundadas, y (ii) la mortandad de macollos (figura 1).

Generalmente se entiende por adaptación a la

adecuación de la duración del ciclo a antesis, posicionada la ERTA bajo las mejores condiciones ambientales para un sitio determinado. Una vez lograda la adaptación, la manipulación de la duración relativa de las etapas particulares del ciclo a antesis podría tener un impacto en el rendimiento potencial. Específicamente se ha planteado que si se extiende el período de crecimiento de la espiga, el cual se encuadra dentro de la ERTA, sin modificar el tiempo a antesis (para no alterar la adaptación) a expensas de las duraciones etapas previas (EVE, ERTE), entonces el número de flores fértiles en antesis y por lo tanto, el número de granos, aumentarían y con ellos, el rendimiento potencial de los cultivares (Slafer y Rawson 1996; Slafer et al. 2001).

Para manipular el ciclo del cultivo no sólo deben conocerse los controles ambientales sobre cada una de las etapas que componen el tiempo a antesis, sino también cómo el genotipo modula esa respuesta al ambiente. El control genético de la sensibilidad a fotoperiodo (duración de las horas de luz) se atribuye principalmente a los genes *Ppd-1*, en los genomas D, B y A (*Ppd-D1*, *Ppd-B1* y *Ppd-A1*) y se asocian a fenotipos insensibles

1- CITNOBA-CONICET. Monteagudo 2772. (2700) Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

2- ICREA (Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados), Departament de Producció Vegetal y Ciències Forestals y AGROTECNIO (Centre para la Investigació en Agrotencologia), Universitat de Lleida, Av. Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España.

3- EEA INTA Pergamino. Ruta 32, Km 4.5. (2700) Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

*t.perezgianmarco@conicet.gov.ar

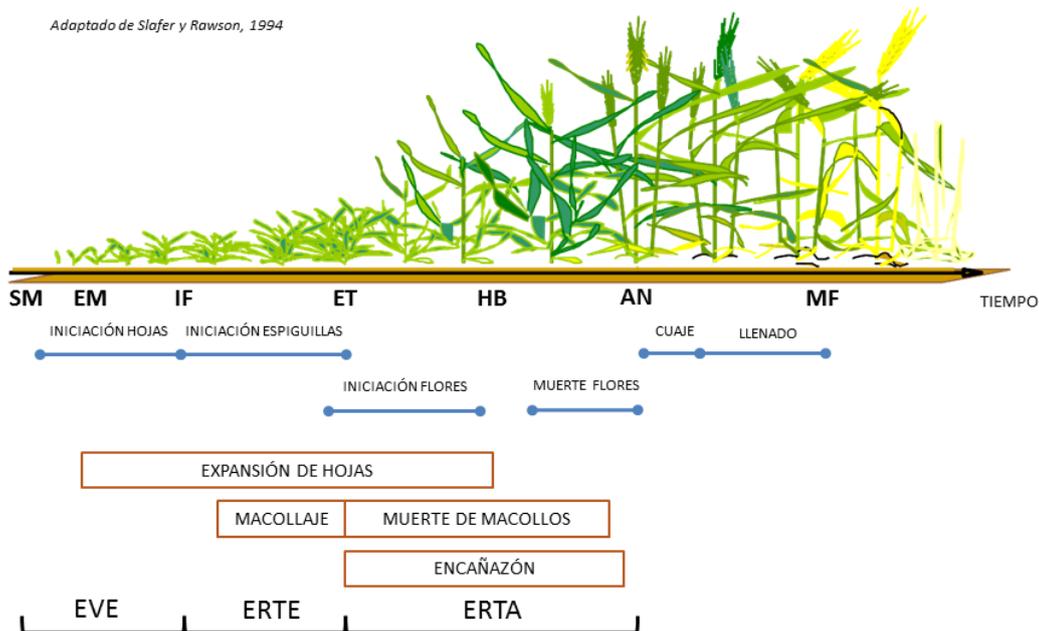


Figura 1. Representación esquemática del ciclo del trigo desde siembra hasta madurez fisiológica, con detalle de estructuras formadas y cambios morfológicos externos según etapas del desarrollo. SM: Siembra, EM: Emergencia, IF: Iniciación Floral, ET: Espiguilla Terminal, HB: Hoja Bandera, AN: Antesis, MF: Madurez Fisiológica. EVE: Etapa Vegetativa, ERTE: Etapa reproductiva temprana, ERTA: Etapa reproductiva tardía.

al fotoperiodo para el tiempo a antesis sus alelos *Ppd-1a*, de expresión semi-dominante en estado heterocigota. Por el contrario, el alelo recesivo (su estado natural o *wild type*, *Ppd-1b*) otorga un fenotipo sensible a fotoperiodo, i.e. la duración de las etapas del ciclo se acorta bajo fotoperiodos mayores, por lo que se reconoce al trigo como una planta de día largo. Por ello, se espera que las mayores diferencias entre líneas con distinta sensibilidad al fotoperiodo sean más evidentes bajo fotoperiodos cortos (González et al. 2010).

Dada la importancia que tiene la fecha de antesis como característica adaptativa a un ambiente dado, gran parte de los estudios realizados previamente sobre este grupo de genes se ha centrado en la investigación de su impacto sobre el tiempo a espigazón/antesis. Los trabajos más recientes, trabajando con líneas isogénicas (i.e. que difieren en un solo locus) sobre el tiempo a antesis, han mostrado que en general *Ppd-D1a* ejerce mayor efecto que *Ppd-B1a*, mientras que *Ppd-A1a* tiene un impacto intermedio, pudiendo acercarse al primero en algunos casos. Existe sin embargo controversia acerca del orden de intensidad del efecto de los alelos según sus dadores, fondo genético en el que se integran, y la forma en la que se obtienen las líneas sobre las que se prueban sus

efectos (González et al 2005, Pérez-Gianmarco et al. 2018).

Muy pocos trabajos han tenido por objetivo estudiar qué mecanismo fisiológico es afectado por estos genes en las distintas etapas pre-antesis del ciclo, cómo interactúan los genes entre sí, y cuál es su impacto sobre: (a) el tiempo a antesis y la duración de las etapas de desarrollo EVE, ERTE y ERTA, y (b) el número de estructuras diferenciadas en cada una de las etapas debido al efecto sobre la duración y la tasa de diferenciación y/o expansión de dichas estructuras, cuando el fotoperiodo fue contrastante desde la emergencia del cultivo.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron líneas isogénicas para los genes *Ppd-1* sobre el cultivar primaveral Paragon (tabla 1) provistas por el John Innes Center (UK). Las mismas fueron obtenidas por retrocruza asistida por marcadores de alelos *Ppd-1a* provenientes de distintos dadores sobre el padre recurrente Paragon, caracterizado como triple recesivo (*Ppd-1b*). Además de Paragon, se cultivaron líneas con un solo alelo *Ppd-1a* en el genoma A, B o D (líneas simples) o los tres alelos de insensibilidad a fotoperiodo combinados (líneas triples), lo que permi-

tió evaluar la aditividad del efecto individual de los alelos de insensibilidad.

Los experimentos se desarrollaron en cámaras de crecimiento a temperatura constante (16° C), y se expuso a los genotipos a dos fotoperiodos contrastantes. Los tratamientos de fotoperiodo consistieron en i) 12 y ii) 16 horas de luz, constantes en ambos casos desde emergencia hasta antesis.

Durante el ciclo del cultivo se realizaron disecciones periódicas del ápice meristemático para determinar el estado apical y el número de primordios diferenciados en cada momento, hasta espiguilla terminal. De esta forma, se calculó posteriormente la duración de EVE y se determinó el final de la ERTE, respectivamente. Externamente se registró la aparición de hojas, el momento de aparición de la hoja bandera y de antesis. La duración de la ERTA se calculó como la duración entre la formación de la espiguilla terminal y antesis. Al momento de expansión de la hoja bandera se registró el número final de hojas.

Los datos fueron analizados usando análisis de la varianza (ANOVA), posterior al cual se compararon las medias de los genotipos en cada fotoperiodo mediante la prueba de Tukey, con $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

El ciclo de Paragon a antesis fue significativamente más largo que el de cualquiera de las demás líneas con algún grado de insensibilidad, tanto bajo fotoperiodo corto como largo. La diferencia entre extremos fue, sin embargo, mucho mayor en fotoperiodo corto (>1000°C d) que en largo (c. 200°C d). Sólo se pudieron detectar diferencias entre las líneas insensibles en fotoperiodo corto, situación bajo la cual el orden de insensibilidad otorgada por los alelos fue *Ppd-D1a*>*Ppd-A1a*>*Ppd-B1a*. También bajo esa condición, la línea triple insensible fue significativamente más precoz que P(S64-2D).

La duración del ciclo completo a antesis estuvo relacionada tanto a la duración de la etapa de aparición de hojas (i.e. desde emergencia hasta hoja bandera, $R^2 = 0,99$, $p < 0,001$) como a la duración de la elongación del pedúnculo (i.e desde hoja bandera hasta antesis, $R^2 = 0,43$, $p = 0,04$). Los genotipos no difirieron en gran medida entre sí para esta última etapa. Por el contrario, se encontraron grandes diferencias para la etapa de aparición de hojas entre genotipos, tanto bajo fotoperiodo corto (832 a 1921°C d) como bajo fotoperiodo largo (771 a 913°C d).

Esto no resulta sorprendente si se considera que en fotoperiodo corto, los genotipos insensi-

bles diferenciaron entre tres y cuatro hojas menos que Paragon y que la duración de la etapa de aparición de hojas estuvo fuertemente relacionada al número final de hojas ($R^2 = 0,93$, $p < 0,001$), que fue su principal determinante.

Sin embargo, la tasa a la que esas hojas se desplegaron (filocrono⁻¹) también influyó sobre la duración de la etapa de aparición de hojas, permitiendo explicar las diferencias en la duración de esa etapa en fotoperiodo largo, condición bajo la cual no hubo diferencia significativa entre genotipos para el número final de hojas. En general, mayores niveles de insensibilidad estuvieron asociados a mayores tasas de aparición de hojas, lo que contribuyó a acortar la duración de la etapa más allá de las diferencias en el número de hojas que habrían de aparecer.

Los alelos de insensibilidad aceleraron la tasa de desarrollo de todas las etapas particulares del ciclo bajo fotoperiodo corto (figura 2, paneles inferiores). Bajo fotoperiodo largo, los efectos de los alelos *Ppd-1a* fueron de menor magnitud, pero aún lo suficientemente significativos como para encontrar diferencias entre Paragon y el triple insensible en EVE y ERTA (figura 2, paneles superiores). Como resultado, tanto la EVE como la ERTE y ERTA fueron acortadas en todos los genotipos con algún grado de insensibilidad. De manera notable, fue la ERTA la que mostró una mayor reducción en su duración ante incrementos en la insensibilidad otorgada por la combinación alélica para *Ppd-1*.

Esta reducción en la duración de las etapas, particularmente EVE y ERTE, impactó negativamente en el número de estructuras generadas durante las mismas (i.e. hojas y espiguillas, respectivamente, figura 3). Sin embargo, la relación fue distinta en un caso y en otro. Esto se debió a que en el caso de las espiguillas, la reducción en la duración de la etapa durante la que se diferenciaron estuvo parcialmente compensada por un aumento en la tasa a la que lo hicieron, mientras que esa compensación no ocurrió en el caso de las hojas. Esto puede notarse en la diferencia de las pendientes en la figura 3 b y a, respectivamente.

CONSIDERACIONES FINALES

Los alelos *Ppd-1a* acortaron la duración del ciclo a antesis, tanto bajo fotoperiodo corto como largo. Cada uno de ellos proveyó distinto nivel de insensibilidad, de acuerdo con el orden de magnitud de los efectos propuesto. Mientras tanto, la combinación de los tres alelos de insensibilidad tendió a maximizar la insensibilidad del genotipo que los portó. Sin embargo, el efecto estuvo lejos de ser

Tabla 1. Combinación alélica para Ppd-1 en los genomas D, B y A para cada genotipo.

Línea	D	B	A	Dador
Paragon	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1b</i>	
PCS2B	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1a</i>	<i>Ppd-A1b</i>	Chinese Spring
PS642D	<i>Ppd-D1a</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1b</i>	Sonora 64
PGS-1002A	<i>Ppd-D1b</i>	<i>Ppd-B1b</i>	<i>Ppd-A1a</i>	GS-100
Triple Insensible	<i>Ppd-D1a</i>	<i>Ppd-B1a</i>	<i>Ppd-A1a</i>	

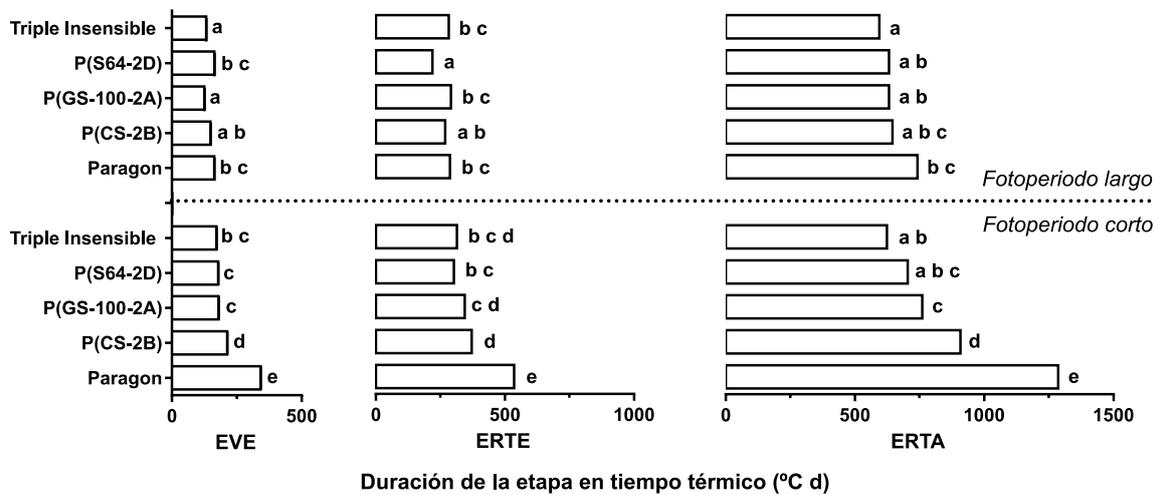


Figura 2. Duración de etapas intermedias del ciclo: etapa vegetativa (EVE), etapa reproductiva temprana (ERTE) y etapa reproductiva tardía (ERTA). Las barras correspondientes a cada etapa específica que no comparten letras son significativamente distintas (Tukey; $\alpha = 0,05$).

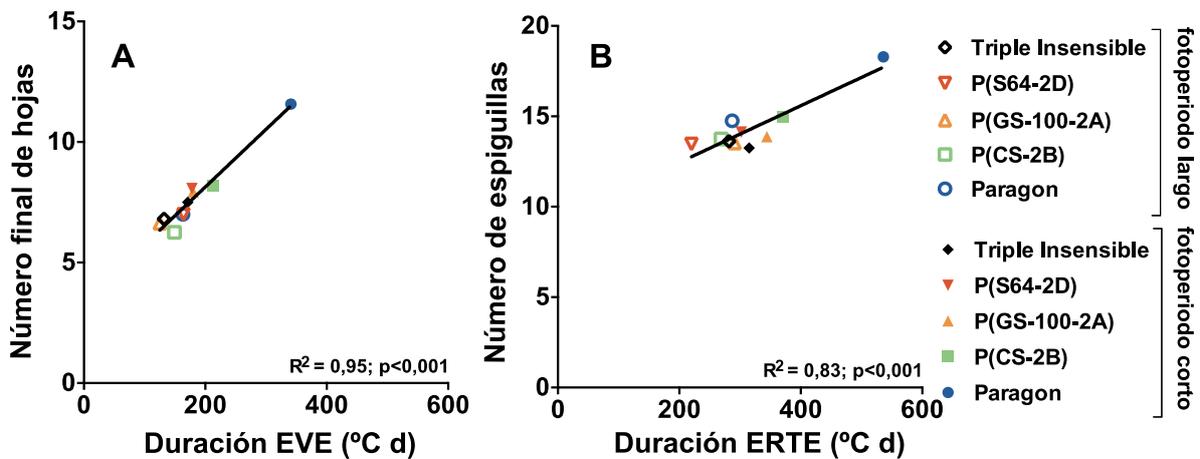


Figura 3. Relación entre el número de estructuras generadas y la duración de la fase durante la cual se diferencian.

aditivo, lo cual muestra que hay una saturación de la respuesta, cercana a la que muestra el genotipo con el más fuerte de los alelos, *Ppd-D1a*. Por otro lado, todas las etapas intermedias respondieron a la acción de los alelos de insensibilidad, aunque en distinta medida. Contrariamente a lo que suele creerse, la magnitud del efecto de los alelos fue magnificada conforme el ciclo avanzaba. Así, la ERTA fue la etapa que mayor respuesta mostró a la incorporación de alelos de insensibilidad. Ninguno de los alelos probados afectó diferencialmente la tasa de desarrollo de una etapa por sobre las demás. Ello hubiera sido ideal para optimizar sus duraciones relativas a través de la manipulación de la sensibilidad a fotoperiodo de forma de mejorar el rendimiento potencial. El efecto de otras variantes alélicas debería ser probado a tal fin.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- González, F.G.; Slafer, G.A.; Miralles, D.J. 2005. Pre-anthesis development and number of fertile florets in wheat as affected by photoperiod sensitivity genes *Ppd-D1* and *Ppd-B1*. En: *Euphytica* 146:253–269.
- González, F.G.; García, G.; Miralles, D.J.; Slafer, G.A. 2010. Bases fisiológicas y genéticas del desarrollo reproductivo en trigo como determinante del número de granos. En: Miralles, D.J.; Aguirrezábal, L.N.; Otegui, M.E.; Kruk, B.C.; Izquierdo, N. (Eds). *Avances en Ecofisiología de Cultivos*. Buenos Aires, Argentina, pp. 2–21.
- Pérez-Gianmarco, T.I.; Slafer, G.A.; González, F.G. 2018. Wheat pre-anthesis development as affected by photoperiod sensitivity genes (*Ppd-1*) under contrasting photoperiods. En: *Functional Plant Biology* (online early). Disponible en: <https://doi.org/10.1071/FP17195> [consultado: 8 de marzo de 2018].
- Slafer, G.A.; Rawson, H.M. 1996. Responses to photoperiod change with phenophase and temperature during wheat development. En: *Field Crops Research* 46:1–13.
- Slafer, G.A.; Abeledo, L.G.; Miralles, D.J.; González, F.G.; Whitechurch, E. 2001. Photoperiod sensitivity during stem elongation as an avenue to raise potential yield in wheat. En: *Euphytica* 119:191–197. <<