# Dinámica de la acumulación de proteínas del gluten en genotipos de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) en respuesta a la fertilización complementaria con Nitrógeno y Azufre y su impacto sobre parámetros de calidad final

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias*

**Adriana Cecilia Arrigoni**
Ingeniera agrónoma – Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - 2006
Magister en Producción Vegetal – Universidad de Buenos Aires - 2015

Lugar de trabajo: Facultad de Agronomía (Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires)

FAUBA Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano

Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires

**COMITÉ CONSEJERO**

Director de tesis
**Gabriela Edith Tranquilli**
Ingeniera agrónoma (UBA)
Doctora en Ciencias Agropecuarias (UBA)

Co-director
**Laura Lázaro**
Ingeniera agrónoma (UNCPBA)
Magister Scientiae en Producción Vegetal (UNMdP)
Doctora en Ciencias Agropecuarias (UNMdP)

Consejero de Estudios
**William John Rogers**
BA y MA Ciencias Naturales (Univ. Cambridge)
PhD Genética (Univ. Birmingham)

**JURADO DE TESIS**

JURADO
**Irma Roberts**
Licenciada en Ciencias Biológicas (UBA)
Doctora en Ciencias Biológicas (UBA)

JURADO
**Eduardo Pagano**
Ingeniero agrónomo (UBA)
Doctor en Ciencias biológicas (universidad de Granada)

JURADO
**Andrés Berger Ricca**
Ingeniero agrónomo
PhD Crop and Soil Sciences

Fecha de defensa de la tesis: 07 de julio de 2022

Esta tesis se la dedico a mis hijos Coni y Fran, que son los amores de mi vida, y me inspiran todos los días a ser mejor mamá, mejor persona y mejor profesional.

## Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a las personas que conforman la Facultad de Agronomía de Azul, mi facultad, por haberme enseñado lo que es la agronomía, darme un título de ingeniera, acogerme entre sus docentes y apoyarme para desarrollar mis estudios de posgrado: primero la maestría, después la especialización y ahora el doctorado.

En segundo lugar a la escuela para graduados Alberto Soriano FAUBA, que me recibió por segunda vez para realizar mis estudios de posgrado.

A la Dra. Karina Díaz, por impulsarme a presentarme a la beca Doctor@r agronomía, con la que financié parte de esta carrera.

A mi comité consejero de tesis: Gabriela, Laura y John, en primer lugar por todo el apoyo que dieron, por todas las ideas que aportaron, las sugerencias y correcciones que enriquecieron este trabajo, y los que de él derivaron.

A los criaderos de semillas que me facilitaron las variedades para los ensayos, y Gabriela Tranquilli por acercarme las líneas isogénicas utilizadas en este trabajo. Al personal de la Chacra de la Facultad de Azul, por ayudarme siempre con los ensayos a campo: Gustavo, Ulises y Javier.

A mis compañeros de la cátedra y amigos, Daniel y Agustín, por todo el apoyo siempre, por los mates, la colaboración con los ensayos a campo y el procesamiento del material en nuestro laboratorio, siempre con buena música. A todos mis amigos y compañeros de la facultad, por siempre apoyarme y alentarme para seguir adelante con el doctorado, cuando el camino se ponía difícil.

A todos los tesistas de grado y becarios de contraprestación que colaboraron de alguna manera durante los años de ensayos: Federico, Eugenio, Facundo y Maribel, y mis alumnos que me motivan para seguir formándome.

A mis padres por inculcarme el valor del esfuerzo, la responsabilidad y la educación. Especialmente a mi mamá por apoyarme y acompañarme siempre en mi formación y por ayudarme a concluir este doctorado cuya etapa final transcurrió en pandemia, haciéndolo aún más difícil. Sin vos no hubiese podido lograrlo má.

A mi amor Caito, por acompañarme, apoyarme, y muchas veces creer más en mí que yo misma, por escucharme renegar y a veces flaquear y por darme el ánimo necesario para seguir siempre adelante. A mis hijos Coni y Franchu, por entender que muchas veces cuando mamá vuelve del trabajo sigue trabajando en casa, por acompañarme a revisar los ensayos a la chacra o a sacar geles los fines de semana, estar conmigo mientras trillaba espigas en casa, por bancarme trabajando en el contexto de home office y por ser el motor de mi vida que me motiva a ser el mejor ejemplo posible.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

# Índice general

ÍNDICE DE CUADROS……..…xiii

ÍNDICE DE FIGURAS……...…xvii

ABREVIATURAS…….……..…xxii

RESUMEN ……...……xxiii

ABSTRACT……...…….xxv

CAPÍTULO N°1. INTRODUCCIÓN…….……1

1.1 Planteo del problema…….…...1

1.2 Antecedentes …….....2

1.2.1 Calidad de trigo …….2

1.2.2 Grupos de calidad……..5

1.2.3 Tipos de proteínas del gluten…….7

Gliadinas……10

Gluteninas…….11

1.2.4 Deposición de proteínas……...……14

1.2.5 Efecto de la fertilización con azufre y nitrógeno…….16

1.3 Hipótesis…….....20

1.4 Objetivo general……..…….....21

1.5 Objetivos específicos…….....21

CAPÍTULO N°2. CONDICIONES AMBIENTALES……...……..…….....23

2.1 Datos históricos…….……..24

2.2 Condiciones agrometeorológicas y de suelo durante los años 2014 y 2015 en el sitio de los experimentos……..…….25

2.3 Condiciones agrometeorológicas y de suelo durante el año 2018……..….31

CAPÍTULO N°3. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE EL RENDIMIENTO EN GRANO DE VARIEDADES ARGENTINAS DE TRIGO PAN DE DISTINTOS GRUPOS DE CALIDAD……33

3. 1 Introducción……..……..…….….33

3. 2 Materiales y métodos……..……...…….….36

3. 2. 1 Cultivares……...…..…36

3. 2. 2 Experimentos a campo……...……...…….…36

3. 2. 3 Análisis estadísticos……...…...…….…37

3. 3 Resultados y discusión……...…….…..…….…38

3. 3. 1 Efecto de la fertilización temprana con nitrógeno y foliar complementaria con nitrógeno y azufre sobre el rendimiento…..……...……38

3. 3. 2 Efecto de la fertilización temprana con nitrógeno y foliar complementaria con nitrógeno y azufre sobre el número de granos y el peso de mil granos……..……..45

3. 3. 3 Efecto de la fertilización temprana con nitrógeno y complementaria con nitrógeno y azufre sobre el índice de cosecha (IC)… ……...…..……..47

3.4 Conclusión……...……...48

CAPÍTULO N°4. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE LA CALIDAD INDUSTRIAL DE VARIEDADES ARGENTINAS DE TRIGO PAN DE DISTINTOS GRUPOS DE CALIDAD……..……..50

4. 1 Introducción……..…….…..……...50

4. 2 Materiales y métodos……..…….…….54

4. 2.1 Porcentaje de proteínas y porcentaje de gluten……..…….…….....54

4. 2. 2 Parámetros reológicos……..……..54

4. 2. 3 Fuerza del gluten…….…….…..……55

4. 2. 4 Análisis estadístico……....…….56

4. 3 Resultados y discusión……...…….…….....56

4. 3. 1 Incidencia de la fertilización tradicional con nitrógeno y complementaria con nitrógeno y azufre sobre el peso hectolítrico (PH), la cantidad de proteínas (% P) y el gluten (%GH)…….. ……..……...56

4. 3. 2 Parámetros reológicos de la masa y fuerza del gluten……...64

4.4 Conclusión...……74

CAPÍTULOS N°5. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE LA ACUMULACIÓN DE GLIADINAS Y GLUTENINAS DE VARIEDADES ARGENTINAS DE TRIGO PAN DE DISTINTOS GRUPOS DE CALIDAD……...75

5. 1 Introducción…….....75

5. 2 Materiales y métodos……..78

5. 2.1 Cosechas durante llenado de granos……79

5. 2. 2 Extracción de las fracciones proteicas y electroforesis en geles de poliacrilamida …….....79

5. 2. 3 Cuantificación de las fracciones proteicas…….80

5. 2. 4 Análisis estadístico……...…..80

5. 3 Resultados y discusión…….....81

5. 3.1 Identificación de la composición proteica de GAPM, GBPM y Gliadinas….81

5. 3. 2 Acumulación de fracciones proteicas durante el llenado de granos…….…83

5. 3. 3 Acumulación de fracción de GAPM durante el llenado de granos……..….86

5. 3. 4 Acumulación de fracción de GBPM durante el llenado de granos……...….93

5. 3. 5 Acumulación de fracción de Gliadinas durante el llenado de granos….....95

5. 3. 6 Relación entre fracciones proteicas del gluten…….…….....98

5. 4 Conclusión……...……100

CAPÍTULO N°6. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE LA ACUMULACIÓN DE SUBUNIDADES CONTRASTANTES DE GLIADINAS Y GLUTENINAS Y SU IMPACTO EN LA CALIDAD FINAL, EVALUADO EN LÍNEAS ISOGÉNICAS DE UN CULTIVAR DE TRIGO PAN…….101

6. 1 Introducción…….....101

6. 2 Materiales y métodos……...……104

6. 2. 1 Líneas isogénicas……...……..….104

6. 2. 2 Experimento a campo……...……105

6. 2. 3 Identificación y Cuantificación.……...106

6. 2. 4 Calidad…….....106

6. 2. 5 Análisis estadístico……...……106

6. 3 Resultados y discusión……...…….....107

6. 3. 1 Acumulación de las fracciones proteicas durante el llenado de granos……..…….112

6. 3. 2 Incidencia de la fertilización tradicional con nitrógeno y foliar complementaria con nitrógeno y azufre sobre el peso de mil grano (P1000) , porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de gluten (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS)…… ……...……...……..112

6.4 Conclusión…….....117

CAPÍTULO N°7. DISCUSIÓN GENERAL……...119

7.1 Acumulación de las fracciones proteicas que componen el gluten en variedades de trigo pan de distintos grupos de calidad…….……121

7. 2 Relación entre composición de GAPM, su acumulación y el rendimiento en grano……123

7. 3 Influencia de la fertilización complementaria sobre la calidad final de trigo pan……...127

7. 4 Conclusiones y Perspectivas futuras……131

BIBLIOGRAFÍA…….133

# ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1: Índice de estrés hídrico (E.H.) semanal de los cultivos para la región Centro del partido de Azul, desde Julio a Diciembre, en los dos años de ensayos (Año 1: 2014 y Año 2: 2015)…… ……...…….28

Cuadro 2.2: Datos provenientes del análisis de suelo (pH, Materia orgánica, Fósforo, Sulfatos y Nitrógeno) en las profundidades 0-20cm y 20- 40cm, en los dos años de experimentos (el año 1 corresponde al año 2014 y el año 2 a 2015)…….. ….29

Cuadro 2.3: Datos provenientes del análisis de suelo (pH, Materia orgánica, Fósforo, Sulfatos y Nitrógeno) en las profundidades (Prof.) 0-20cm y 20- 40cm, en la Chacra experimental de la Facultad de Agronomía (UNCPBA) en Azul, año 2018……..……..32

Cuadro 3.1: Nivel de significancia (Sig.) y porcentaje de explicación (% Exp.) de las distintas fuentes de variación: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Bloque (B), Año (A), y sus interacciones V x F, V x B, V x A, F x B, F x A y V x F x A, para los parámetros analizados: Rendimiento en grano (g $m^{-2}$), Número de granos $m^{-2}$ (NG), Peso/grano (P1000) e Índice de Cosecha (IC)…… …….……39

Cuadro 3.2: Promedio de Índice de Cosecha (IC) en los dos años de ensayo (Año 1 y Año 2) para las seis variedades analizadas…….……..48

Cuadro 4.1: Nivel de significancia (Sig.) y Porcentaje de explicación (%Exp.) de la varianza de las variables Peso hectolítrico (PH), porcentaje de proteínas (%P) y porcentaje de gluten húmedo (%GH) en función de las fuentes de variación: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Bloque (B), Año (A) y sus interacciones V x F, V x B, V x A, F x A y V x F x A…….....57

Cuadro 4.2: Valor promedio de peso hectolítrico (PH) de las variedades analizadas. Entre paréntesis figura el grupo de calidad según INASE……..58

Cuadro 4.3: Valor promedio de peso hectolítrico (PH) en los dos años de ensayos, correspondiente a los seis genotipos analizados y los tres tratamientos de fertilización.....58

Cuadro 4.4: Porcentaje de proteínas en los tres tratamientos: Testigo (T), con fertilización nitrogenada (N), fertilización nitrogenada tradicional y complementaria foliar con NS (NS), en los dos años analizados (Año 1 y Año 2). Los datos son la media de 6 genotipos de trigo analizados en esta tesis……...…….…..60

Cuadro 4.5 : Porcentaje de Gluten Húmedo (%GH) de las variedades analizadas. Media de los tres tratamientos de fertilización analizados (T, N, NS). Entre paréntesis figura el grupo de calidad según INASE……..……62

Cuadro 4.6 : Porcentaje de gluten húmedo en los tres tratamientos: Testigo (T), Nitrógeno (N), Nitrógeno y Azufre (NS), en los dos años analizados (Año 1 y Año 2)…… ……..…64

Cuadro 4.7 : Porcentaje de explicación (% Exp.) y nivel de significancia (Sig.) de las variables Fuerza de la masa (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y volumen de sedimentación (SDSS) en función de las fuentes de variación Genotipo (G), Tratamiento de fertilización (F), Bloque (B), Año (A) y sus interacciones G x F, G x B, G x A, F x A y G x F x A…….....65

Cuadro 4.8 : Valor promedio de tenacidad de la masa (W) para las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N, NS). Entre paréntesis figura el grupo de calidad según INASE……..…….....70

Cuadro 5.1: Composición proteica de subunidades de GAPM, tipo de GLI y puntaje de calidad obtenido en el Score Glu1 (Payne et al., 1987) en los genotipos analizados. Entre paréntesis figura el grupo de calidad de cada genotipo……81

Cuadro 5.2: Nivel de significancia de las fracciones proteicas GAPM, GBPM y GLI de las distintas fuentes de variación analizadas: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Año (A), tiempos de muestreo o días después de antesis (DDA), y las interacciones V x F, V x A, F x A, V x DDA, F x DDA, V x F x DDA, V x F x A, V x A x DDA, F x A x DDA, V x F x A x DDA..…… ……..…..……...85

Cuadro 5.3: Nivel de significancia de la relación Gluteninas/Gliadinas (GLU/GLI) y Gluteninas de alto peso molecular/Gluteninas de bajo peso molecular (GAPM/GBPM), de las distintas fuentes de variación analizadas: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Año (A), Tiempos de muestreo o días después de antesis (DDA), y las interacciones V x F, V x A, V x DDA, F x A, F x DDA, A x DDA, V x F x A, V x F x DDA, F x A x DDA……...……...99

Cuadro 6.1: Composición de GAPM, tipo de Gli y valor de Score Glu-1 de los genotipos analizados……104

Cuadro 6.2: P-value de las gluteninas de alto peso molecular (GAPM), gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) y gliadinas (GLI), para las distintas fuentes de variación (F.V.) analizadas (Genotipo: G, Tratamiento de fertilización: F, Tiempo de muestreo de llenado o días después de antesis: DDA), y sus interacciones, en el par isogénico que difiere en el locus Glu-B1 (7*+8vs7+9) …….……..…….....109

Cuadro 6.3: P-value del peso de mil granos (P1000), porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de gluten (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS), para las distintas fuentes de variación: Genotipo (G), Tratamiento de fertilización (F) y la interacción G x F, para el par isogénico 7*+8 / 7+9 (Glu-B1)…… ……112

Cuadro 6.4: P-value del peso de mil granos (P1000), porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de gluten (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS), para las distintas fuentes de variación: Genotipo (G), Tratamiento de fertilización (T. F) y la interacción G x T.F, para el par isogénico con gliadinas tipo CSS y gliadinas tipo CNN……...…116

Cuadro 7.1: Porcentaje de explicación (%Exp.) y nivel de significancia (NS) de las Gluteninas de alto peso molecular (GAPM), gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) y gliadinas (Gli), según las distintas fuentes de variación analizadas y sus interacciones……124

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Datos mensuales históricos (medias del período 1994-2016) de precipitaciones y temperaturas máximas, medias y mínimas desde Julio a Diciembre en la región Centro del Partido de Azul (Boletines Agrometeorológicos del Centro Regional de Agrometeorología de la Facultad de Agronomía, UNCPBA)…….. …..24

Figura 2.2: Precipitaciones y temperaturas máximas, medias y mínimas mensuales desde Julio a Diciembre, en los dos años de ensayos (Año 1corresponde a 2014 y Año 2 corresponde a 2015)…… ……..……...26

Figura 2.3: Precipitaciones y temperaturas máximas, medias y mínimas mensuales desde Julio a diciembre durante el año 2018……..……31

Figura 3.1: Relación entre rendimiento y número de granos de las seis variedades, los tres tratamientos de fertilización, en los dos años de ensayos……40

Figura 3.2: Relación entre rendimiento y peso de mil de las seis variedades, los tres tratamientos de fertilización, con todas las repeticiones, en los dos años de ensayos……..41

Figura 3.3: Rendimiento (g $m^{-2}$) promedio de seis genotipos argentinos de trigo en tres tratamientos de fertilización: Testigo (T), fertilización nitrogenada (N) y fertilización nitroazufrada (NS), en dos años de ensayos (Año 1 y Año 2). La línea punteada indica el rendimiento promedio de trigo pan en la región central de la provincia de Buenos Aires en la última campaña (Bolsa de Cereales de Buenos Aires, 2021 ). Letras distintas indican diferencias significativas (P=0.05)…… ……...……...43

Figura 3.4: Número de granos por metro cuadrado en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS) en los dos años de ensayo. Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05)……...……..…45

Figura 3.5: Peso de mil (P1000) de las distintas variedades analizadas. Datos promedio de diferentes tratamientos de fertilización en dos años de experimentación en Azul, prov. de Bs. As.. Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)…….……46

Figura 3.6: Promedio de peso de mil en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS) y en los dos años de ensayos. Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)……..……47

Figura 4.1: Alveograma indicando sus principales parámetros: fuerza de la masa (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y relación entre tenacidad y extensibilidad (P/L)…..…..55

Figura 4.2 : Porcentaje de proteínas de los granos de las distintas variedades en los dos años de ensayos. Los datos son la media de tres tratamientos de fertilización (T, N, NS) . Letras distintas indican diferencias significativas. La línea punteada indica 11% de proteínas, que es el valor base de la norma de comercialización de trigo pan en Argentina.....61

Figura 4.3: Relación entre porcentaje de gluten húmedo y porcentaje de proteínas de todas las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS) y en los dos años de experimentos (Año 1 y Año 2)…….……63

Figura 4. 4: Valor promedio de fuerza de la masa (W) para las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N, NS) y en los dos años de ensayos a: Año 1 y b: Año 2. Las líneas negras corresponden a los valores de W esperables como base para cada grupo

de calidad (Cuniberti, 2004) Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)…….....67

Figura 4.5: Valor promedio de extensibilidad de la masa (L) para las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS), en los dos años de experimentos (Año 1 y Año2) Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05) …….…..71

Figura 4.6. Volumen de sedimentación relativo al tratamiento Testigo, en los distintos tratamientos de fertilización (T: Testigo, N: Nitrógeno y NS: Nitrógeno y Azufre). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)…… ……..……..73

Figura 4.7: Volumen de sedimentación relativo al año 1, de las distintas variedades analizadas en los dos años de experimentos (Año 1 y Año 2). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)……...…… …….73

Figura 5.1: perfil proteico de gluteninas de alto peso molecular de las variedades: 1) K. Proteo y K. Rayo; 2) B. Pleno y N. Baguette 9; 3) B. 75 Aniversario y K. León……82

Figura 5.2: perfil proteico de gliadinas similar al cultivar Cheyenne o CNN (1) y similar al cultivar Chinese spring o CSS, con presencia de ω-GLI (2) y similar a CSS con pérdida de ω-GLI y presencia de secalinas (3)……..82

Figura 5.3: Gluteninas de bajo peso molecular, GAPM, como porcentaje de las proteínas totales del gluten, para los seis cultivares analizados (K. Proteo, K. Rayo, B. Pleno, N. Bag 9, B. 75 Aniv. Y K. León), en los tres tratamientos de fertilización (T: sin fertilización nitrogenada, N: fertilización nitrogenada y NyS: fertilización nitrogenada y complementaria con N y S), en los distintos momentos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 días después de antesis- DDA), en el año 1 (a) y el año 2 (b)…… ……...87

Figura 5.4: Gluteninas de bajo peso molecular, GBPM, como porcentaje de las proteínas totales del gluten en función de los días después de antesis (14, 21, 28 y 35 días después de antesis- DDA) para los seis cultivares analizados (K. Proteo, K. Rayo, B. Pleno, N. Bag 9, B. 75 Aniv. Y K. León), en los distintos momentos del llenado de granos, en el año 1 (a) y el año 2 (b)…… ……..…….93

Figura 5.5: Gliadinas, GLI, como porcentaje de las proteínas totales del gluten, para los seis cultivares analizados (K. Proteo, K. Rayo, B. Pleno, N. Bag 9, B. 75 Aniv. Y K. León), en los distintos momentos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 días después de antesis-DDA), en el año 1 (a) y el año 2 (b)…… ……..……96

Figura 6.1: perfil proteico de gluteninas de alto peso molecular de las líneas isogénicas analizadas (perfil 1 corresponde a línea 1, y perfil 2 corresponde a líneas 2, 3 y 4)…….107

Figura 6.2: perfil proteico de gliadinas de las líneas isogénicas analizadas (perfil 1 corresponde a líneas 1, 2 y 3, perfil 2 corresponde a línea 4)……..108

Figura 6.3. Porcentaje de GAPM, GBPM y GLI acumuladas en los distintos momentos de llenado de los granos (14, 21, 28 y 35 DDA), en el par isogénico con diferencia en el locus Glu B1 (7*+8 y 7+9)…….. 110

Figura 6.4. Porcentaje de GAPM, GBPM y GLI acumuladas en los distintos momentos de llenado de los granos (14, 21, 28 y 35 DDA), en el par isogénico con diferencia en el tipo de gliadinas (CSS y CNN)…….....111

Figura 6.5: Porcentaje de Gluten húmedo (%GH) para los genotipos con las variantes en Glu B1: 7*+8 y 7+9, en los distintos tratamientos de fertilización: Testigo (T), Nitrógeno

(N) y Nitro- azufrado (NS). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)……... ……113

Figura 6.6: Promedio de fuerza de gluten para el par isogénico con las variantes en Glu B1: 7*+8 y 7+9, en los distintos tratamientos de fertilización: Testigo (T), Nitrógeno (N) y Nitro- azufrado (NS). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05) .....114

Figura 6.7: Promedio de fuerza de gluten para el par isogénico con las variantes en el tipo de gliadinas (CSS y CNN), en los distintos tratamientos de fertilización: Testigo (T), Nitrógeno (N) y Nitro- azufrado (NS). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05)……..……117

Figura 7.1: Análisis de componentes principales con las variables % GAPM, %GBPM, GLI y Rendimiento, clasificadas según el valor de Score de calidad del genotipo, el tratamiento de fertilización (T, N y NS) y el año analizado (Año 1 y 2) …….…..125

Figura 7.2: Análisis de componentes principales con las variables % GAPM, %GBPM, % GLI, W, %GH y SDSS, clasificadas según el valor de Score de calidad del genotipo, el tratamiento de fertilización (T, N y NS) y el año analizado…….…..128

# ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| DDA | Días después de antesis |
| GAPM | Gluteninas de alto peso molecular |
| GBPM | Gluteninas de bajo peso molecular |
| GC | Grupo de calidad |
| GH | Gluten húmedo |
| GLI | Gliadinas |
| GLU | Gluteninas |
| IC | Índice de cosecha |
| L | Extensibilidad de la masa |
| N | Nitrógeno |
| P | Tenacidad de la masa |
| PH | Peso hectolítrico |
| %P | Porcentaje de proteínas |
| S | Azufre |
| SDSS | Test de sedimentación en dodecyl sulfato de sodio |
| W | Fuerza de la masa o fuerza panadera |

**Dinámica de la acumulación de proteínas del gluten en genotipos de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) en respuesta a la fertilización complementaria con Nitrógeno y Azufre y su impacto sobre parámetros de calidad final**

La calidad del trigo está determinada por factores genéticos y ambientales y por la interacción genotipo x ambiente que, en conjunto, afectan la composición proteica del grano. Las proteínas de reserva del grano, gluteninas y gliadinas, son los principales determinantes de la calidad del uso final y se acumulan en diferentes momentos durante el llenado. La fertilización del cultivo es una práctica utilizada para incrementar tanto el rendimiento como la calidad de los granos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la fertilización temprana con N y la fertilización foliar complementaria con N y S en etapas más avanzadas del cultivo, en la acumulación de proteínas de reserva, la calidad final y el rendimiento y sus componentes, de 6 genotipos comerciales pertenecientes a los tres grupos de calidad, y de dos pares de líneas isogénicas con diferente calidad potencial derivadas de una variedad del grupo de calidad dos. Se llevaron a cabo tres experimentos de campo en Azul (Provincia de Buenos Aires), y se probaron los siguientes tratamientos de fertilización: T (tratamiento sin fertilizante de N y S), N (con fertilizante nitrogenado temprano) y NS (con fertilización foliar complementaria con nitrógeno y azufre). Se cosecharon espigas en distintos momentos durante la etapa de llenado de granos para cuantificar las fracciones proteicas, y a madurez se cosecharon todas las espigas para estimar el rendimiento y medir la calidad de los granos y masas. Se encontró que el tratamiento NS no tuvo un rendimiento significativamente mayor que el tratamiento N. La acumulación de GAPM difirió entre tratamientos de fertilización, entre

los momentos del llenado y entre los genotipos, similar a la observado para los parámetros de calidad de la harina, que también se asociaron con la composición de GBPM y el valor calculado mediante el índice de calidad *Glu-1*.

Palabras clave: GLUTENINAS- ACUMULACIÓN DE PROTEÍNAS- CALIDAD DE TRIGO- FERTILIZACIÓN FOLIAR COMPLEMENTARIA

**Dynamics of gluten protein accumulation in bread wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) in response to complementary fertilization with Nitrogen and Sulfur and its impact on end use quality parameters**

Bread wheat quality is determined by genetic and environmental factors and by genotype x environment interaction that, together, affect grain protein composition. The storage proteins, glutenins and gliadins, are the main determinants of end-use quality and accumulate at different times during grain filling stage. Crop fertilization is a practice used to increase both the yield and quality of the grain. The objective of this work was to evaluate the influence of early fertilization with N and complementary foliar fertilization with N and S in advanced stages of the crop, on the accumulation of storage proteins, end-use quality and yield and its components, of six genotypes belonging to the three national quality groups, and of two pairs of isogenic lines with different potential quality derived from a variety of quality group two. Three field experiments were carried out in Azul (Province of Buenos Aires), and the following fertilization treatments were tested: T (treatment without N and S fertilizer), N (with early nitrogen fertilizer) and NS (with complementary foliar fertilization with nitrogen and sulfur). Ears were harvested at different times during the grain filling stage in order to quantify the protein fractions, and at maturity all the ears were harvested to estimate yield and measure grain and dough quality. It was found that the NS treatment did not have a significantly higher yield than the N treatment. The accumulation of HMW glutenins differed between fertilization treatments, between grain filling times and between genotypes, similar to that observed for the flour

quality parameters, which were also associated with the LMW glutenin composition and the value calculated using the *Glu-1* quality score.

Keywords: GLUTENINS- PROTEIN ACCUMULATION- WHEAT QUALITY- COMPLEMENTARY FOLIAR FERTILIZATION.

# CAPÍTULO N°1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Planteo del Problema

La calidad de uso final de las harinas de trigo está determinada principalmente por la cantidad y calidad de las proteínas que componen el gluten; fundamentalmente por la combinación de gluteninas de alto y bajo peso molecular y gliadinas (Wieser, 2007).

Dichas fracciones proteicas están compuestas por subunidades determinadas genéticamente, para las cuales existe variabilidad alélica, y muestran diferencias en la dinámica de acumulación, por lo cual se van depositando en el grano en distintos momentos a lo largo de la etapa de llenado. En su conjunto, estos aspectos suman complejidad al entendimiento de la calidad de uso final. Asimismo, la expresión de dichos grupos proteicos está fuertemente influenciada por el ambiente y por la interacción genotipo x ambiente (DuPont y Altenbach, 2003). La incidencia de estos factores hace que la calidad final obtenida no sea constante a través de todas las cosechas (Abbate et al., 2010) y que la performance relativa entre variedades también varíe entre cosechas.

Una práctica común para mejorar, tanto la calidad de uso final de los granos como el rendimiento por unidad de superficie, es la fertilización del cultivo con macronutrientes como nitrógeno (N) y azufre (S). Sin embargo, como es ampliamente conocido, no todos los cultivares de trigo presentan la misma magnitud de respuesta, en cuanto a calidad y a rendimiento. En Argentina esto se hace evidente en cultivares de distinta calidad panadera potencial o pertenecientes a distintos grupos de calidad (Lerner et al., 2013). No obstante, en base al conocimiento actual no es posible discriminar si esa respuesta diferencial frente a la fertilización se debe sólo a diferencias en la calidad panadera potencial, o se explica

también por diferencias en el rendimiento en el sentido de la demostrada correlación negativa entre calidad y rendimiento (Verges et al., 2006).

Por lo tanto, resulta importante conocer cómo prácticas tradicionales de manejo de los nutrientes, como la fertilización nitrogenada y prácticas menos difundidas, como fertilizaciones complementarias foliares con N y S, influyen sobre la acumulación de las proteínas de reserva del grano y finalmente sobre la calidad panadera de genotipos de trigo pan con diferentes composiciones de gluteninas y gliadinas, contemplando además, la relación de dicha respuesta con el efecto de la fertilización sobre el rendimiento.

## 1.2 Antecedentes

### 1.2.1 Calidad de trigo

El trigo pan (*Triticum aestivum* L.) es uno de los cereales más importantes del mundo utilizado para la alimentación humana, con una producción global de aproximadamente 740 millones de toneladas (FAO, 2017). Provee alrededor de un quinto de las calorías totales consumidas por la población mundial, a través de los múltiples productos que se pueden elaborar con sus granos (Rasheed, 2014).

La harina obtenida de los granos de trigo es el ingrediente principal en la elaboración de pan, galletitas dulces, crackers, productos de repostería, pastas frescas, etc. La elaboración de cada uno de estos productos difiere, tanto en su procesamiento, como en las características finales, por lo que cada uno de ellos requiere de una harina con características específicas (Peña, 2002). Es decir que los requerimientos de calidad

industrial de la harina dependen del producto que se pretenda obtener. Por ello, por ejemplo, un determinado genotipo que posea buena calidad para elaborar panificados puede ser considerado como de mala calidad para la elaboración de galletitas.

La calidad intrínseca del trigo está determinada por la textura del grano y por sus proteínas (fundamentalmente las que conforman el gluten, que determina propiedades únicamente observadas en trigo), además de almidones, lípidos y otros constituyentes menores, como las enzimas. Los componentes constitutivos del grano están controlados genéticamente, pero el ambiente tiene a su vez incidencia sobre los mismos. El impacto del ambiente durante el llenado del grano puede afectar tanto la cantidad, como el balance entre distintos tipos de proteínas, de carbohidratos o de lípidos del grano (DuPont y Altenbach, 2003).

En la actualidad, los modernos procesos de panificación necesitan mayor cantidad de gluten que los métodos tradicionales, llegando, en algunos casos, a ser necesario el agregado de gluten seco para elaborar algunos productos (Fossati, et al 2011). El aumento del automatismo y mecanización de la industria han incrementado las exigencias en cuanto a la estabilidad en los parámetros de calidad del trigo que se utiliza.

El gluten de trigo es un factor muy importante en la calidad de uso final de la harina. La fuerza del gluten y su desempeño funcional están gobernados por características específicas de las proteínas que lo conforman: contenido de proteínas, secuencia de aminoácidos, relación relativa entre tipo y peso molecular de las proteínas (Seghezzo, 1998).

Las proteínas de reserva del grano de trigo, gluteninas y gliadinas, constituyen aproximadamente el 85% de las proteínas del grano y conforman el gluten. El gluten es una matriz proteica con propiedades reológicas que resultan de hidratar la harina y someterla a un amasado para formar una masa. Durante la panificación ocurren cambios estructurales en las proteínas insolubles de la harina, los puentes disulfuro entre las proteínas son redistribuidos, a la vez que, las fibrillas y cuerpos de proteínas se alinean en el sentido de la fuerza ejercida por el amasado. El desarrollo de la masa se obtiene cuando se forma una red tridimensional de proteínas insolubles estabilizada por varias uniones químicas y físicas asociadas con la superficie de las proteínas participantes. A esta red se la denomina gluten (Peña, 2002).

El gluten le otorga a la masa de trigo las características reológicas necesarias para la panificación, debido a la capacidad de retener anhídrido carbónico durante la fermentación, generando los alvéolos característicos y la cohesión a la masa. La viscoelasticidad o fuerza del gluten es el principal factor que determina el uso potencial de las variedades de trigo (Peña, 2002).

Además, el contenido de gluten es para la industria molinera y panadera, uno de los parámetros más importantes de la calidad triguera. Sin embargo, la cantidad de proteínas por sí sola no siempre explica las diferencias en las características de elasticidad de las masas, también resulta importante la relación gluteninas/gliadinas (Seghezzo y Molfese, 2002).

Para determinar la calidad de procesamiento y del producto terminado es necesario conocer las interacciones intra- e inter-moleculares a partir de características funcionales

(elasticidad, extensibilidad, viscosidad, etc,.) determinadas con pruebas sobre las masas, el tipo de proteínas del gluten y de los polisacáridos (Peña, 2014).

Todos los constituyentes de los granos están bajo control genético y son los principales factores determinantes de la absorción de agua de la harina al formar una masa, la elasticidad, extensibilidad y viscosidad de la misma, la expansión de la masa durante el horneado y la textura y vida útil del producto terminado (panes, galletas, pastas, entre otros) (Peña, 2014).

El principal destino de la harina de trigo es la elaboración de pan, este es fuente importante de carbohidratos, proteínas y vitaminas B y E. A su vez, existen distintos tipos de pan consumidos en todo el mundo, que difieren en las propiedades del producto final, las condiciones de procesamiento y las necesidades específicas de calidad del grano (Peña, 2002).

En nuestro país, el 94% de la producción de pan corresponde al pan tradicional de panadería y el 6% al pan industrial (Lezcano, 2011). El Comité de Cereales de Invierno de la Comisión Nacional de Semillas (CONASE) del Instituto Nacional de Semillas (INASE), realiza anualmente la categorización de las nuevas variedades de trigo pan según su índice de calidad en tres grupos de calidad panadera (GC).

### 1.2.2 Grupos de calidad

En Argentina las variedades comerciales de trigo pan se dividen en tres grupos de calidad (GC), según sus atributos para panificación: Grupo de calidad 1 (GC1), Grupo de

calidad 2 (GC2) y Grupo de calidad 3 (GC3). Siendo el GC1 el correspondiente a trigos aptos para panificación industrial, el GC2 conformado por variedades indicadas para panificación tradicional (necesitan más de ocho horas de fermentación) y el GC3 son trigos para panificación directa que requieren menos de ocho horas de fermentación (Salomón y Miranda, 2001; Cuniberti, 2004).

Esta clasificación se establece en base a parámetros de calidad que conforman el índice de calidad. Las variables utilizadas para la elaboración de este índice son: peso hectolítrico, porcentaje de extracción de harina, porcentaje de cenizas, porcentaje de proteínas en grano, gluten húmedo, fuerza de la masa (W del alveograma), estabilidad farinográfica y volumen de pan. Cada grupo de calidad está asociado a usos industriales diferentes (INASE, 2019).

Los trigos del GC1 son generalmente tenaces y al mezclarse con trigos débiles potencian la calidad de las masas de estos últimos dando un excelente volumen de pan, de allí su carácter de corrector. Los trigos de GC2 tienen también buena calidad panadera, sin llegar a ser correctora, y los trigos del GC3 suelen ser muy rendidores, pero de calidad panadera deficitaria.

Debido a la interacción genotipo x ambiente que incide sobre la calidad industrial y a la posibilidad de tener que modificar criterios, esta clasificación no es rígida y puede ser actualizada en la medida que se cuenta con mayores datos (Cuniberti, 2004).

A pesar de dicha categorización, en la práctica se ha encontrado que la calidad de las harinas no es siempre homogénea dentro de cada GC. Abbate et al. (2014) informaron que no hubo una clara diferenciación entre GC para las variables peso hectolítrico,

porcentaje de proteínas y porcentaje de gluten; sin embargo, la fuerza panadera (W) promedio para los trigos del GC1 fue mayor que la de los cultivares del GC2 y ésta, a su vez, mayor que la de los trigos del GC3. Asimismo, para las mismas campañas analizadas (entre 2001 y 2012) dentro de un mismo GC, la diferencia entre cultivares fue sustancial. Por ejemplo, dentro del GC 2, el cultivar ACA 320 presentó un valor de W de 150 J $10^{-4}$ sobre el promedio, mientras el W del cultivar Nidera Baguette 31 fue 110 unidades menor al promedio.

A su vez, las variedades pertenecientes a cada GC pueden tener diferentes composiciones bioquímicas de las fracciones que conforman las proteínas de reserva del grano, por lo que no todos los cultivares serían potencialmente aptos para fabricar los mismos productos (Lerner et al., 2013). Las diferencias en las características intrínsecas de la harina de trigo, asociadas a su composición proteica, son las que definen su aptitud industrial, aún cuando el comportamiento reológico de las masas es influido por el ambiente y la interacción genotipo x ambiente (Cornish et al., 2006).

### 1.2.3 Tipos de proteínas del gluten

Como ya se mencionó, las propiedades de cada variedad de trigo se relacionan fuertemente con las proteínas de reserva del grano, que constituyen el 85% de las proteínas totales del grano. Desde hace más de cien años es ampliamente utilizada la clasificación de las proteínas del endosperma del grano de trigo, propuesta por Osborne (1907), basada en la solubilidad diferencial de los distintos grupos proteicos. Se reconocen cuatro tipos básicos de proteínas: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en solución salina),

gliadinas (solubles en etanol 70%) y gluteninas (solubles en ácidos débiles o álcalis) (Payne, 1987; Gianibelli et al., 2001). Las dos primeras fracciones proteicas tienen funciones fisiológicas, es decir, corresponden a las enzimas que controlan principalmente el proceso germinativo. En la panificación un exceso de estas proteínas resulta negativo, dado que destruyen la estructura interna de la masa provocando una pérdida del anhídrido carbónico y una falta de homogeneidad en la textura interna del pan. Por su parte, las gluteninas (GLU) y gliadinas (GLI) son proteínas de reserva, que en el proceso germinativo aportan al embrión aminoácidos y son las más importantes para determinar la calidad industrial, por ser las responsables de la formación del polímero del gluten (De la Vega Ruiz, 2009).

Las gluteninas (GLU) son proteínas poliméricas conformadas por dos grupos: gluteninas de alto peso molecular (GAPM) y gluteninas de bajo peso molecular (GBPM), unidas por enlaces disulfuro, que le aportan elasticidad a las masas. Las gliadinas (GLI) son proteínas monoméricas que confieren viscosidad y extensibilidad, aunque se cree que dicho aporte es indirecto, a través de su ligamiento genético con las GBPM (Gianibelli et al., 2001).

Cada variedad puede expresar hasta cinco subunidades de GAPM y aún mayor cantidad de GBPM, conformando un “patrón” de subunidades proteicas único para cada variedad de trigo (Wieser, 2007). Se ha reportado que la combinación total de las proteínas del gluten (GAPM, GBPM y GLI) es un fuerte determinante de la calidad intrínseca de la harina (Hernández-Espinosa et al., 2013).

Los puentes disulfuro que se forman entre ciertas proteínas durante el desarrollo del grano de trigo, tienen un rol fundamental en la determinación de la estructura y propiedades del gluten (Altenbach et al., 2016). Las proteínas monoméricas α/β, ω y γ- Gli presentan 3 ó 4 puentes disulfuro intracatenarios respectivamente, mientras que, las poliméricas GBPM y GAPM incluyen puentes intra e intercatenarios (Shewry y Tatham, 1997). Se ha propuesto que los enlaces intracatenarios se forman más rápidamente que los enlaces intercatenarios (Kasarda, 1999).

A su vez, las proteínas de reserva se clasifican en ricas en azufre (S-ricas) y pobres en azufre (S-pobres). Las prolaminas (proteínas de almacenamiento ricas en prolina y glutamina), S-pobres incluyen las ω-Gli, que no contienen residuos de cisteína o metionina. En tanto que, las prolaminas S-ricas incluyen las α y γ-GLI y las GBPM, que tienen un elevado contenido de cisteína. Las GAPM tienen un contenido moderado de residuos de cisteína. Por lo tanto, debido a estas diferencias en el contenido de aminoácidos azufrados entre las proteínas de reserva del trigo, no es extraño que la composición de las proteínas esté influenciada por la disponibilidad de S que tenga el cultivo (Zhao et al., 1999; Rogers et al., 2006).

La distribución del peso molecular de las GLU y su constitución han sido reconocidas como uno de los principales determinantes de las propiedades de las masas y la calidad final. Los macropolímeros de GLU contribuyen directamente a las propiedades de las masas y además su cantidad en la harina de trigo está fuertemente correlacionada con la fuerza del gluten y el volumen de pan (Wieser, 2007).

**Gliadinas**

Las GLI tienen un tamaño molecular entre 30.000 a 75.000 Da y componen el 50% del gluten. Se dividen en cuatro subgrupos: α-, β-, γ- y ω- Gli, que pueden ser separados por electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE- del inglés *Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* o A-PAGE- del inglés *Acid-Polyacrylamide Gel Electrophoresis*, a pH bajo, movilidad decreciente) (Gianibelli et al., 2001).

La mayoría de las GLI son controladas por seis loci principales, denominados *Gli*, localizados en los cromosomas de los grupos homeólogos 1 (*Gli-1*) y 6 (*Gli-2*). Cabe aclarar que cada locus es multigénico. Aunque determinadas definiciones de locus expresan que es el sitio preciso de un cromosoma donde está situado un gen, en el caso de las gliadinas y gluteninas, está ampliamente aceptado que cada locus es un lugar en el cromosoma donde puede haber más de un gen, estrechamente ligados que controlan un carácter (Wieser, 2007).

Los genes que codifican γ- y ω- Gli están ligados a los genes que codifican GBPM, por encontrarse muy cerca, en el brazo corto de los cromosomas de los grupos 1 y 6 (Branlard et al., 2003).

El polimorfismo en las GLI de trigo pan es considerable, pero aun así, tiene un efecto directo relativamente escaso sobre la calidad de las masas (Yu et al., 2011); no obstante, algunos autores, como Branlard et al. (2001), asociaron alelos específicos de GLI con características de calidad de la masa.

En la actualidad, está ampliamente aceptado que la contribución de las GLI a la viscosidad y extensibilidad del gluten no es de forma directa, es decir que no puede

atribuírseles de manera inequívoca, debido al estrecho ligamiento genético, que determina herencia conjunta, con ciertas GBPM (Gianibelli et al., 2001; Rasheed et al., 2014). Algunos autores, como Flaete y Uhlen (2003) y Bonafede et al. (2015), estudiaron el efecto sobre la calidad de las harinas de distintas combinaciones de GLI y GBPM en variedades con similar composición de GAPM, y encontraron cambios asociados a la fuerza del gluten.

**Gluteninas**

Las GAPM tienen un tamaño molecular entre 80.000 y 120.000 Da y representan el 10% del total del gluten. Están codificadas por el locus *Glu-1* ubicado en el brazo largo de los cromosomas del grupo 1 (1A, 1B y 1D).

Según la bibliografía especializada (Payne et al., 1981, Gianibelli et al., 2001, Wieser, 2007) cada locus incluye dos genes ligados que codifican para dos tipos distintos de subunidades de GAPM, subunidades de tipo x y subunidades de tipo y; las subunidades de tipo x tienen en general un mayor peso molecular y por ende menor movilidad electroforética en SDS-PAGE que las subunidades de tipo y.

Payne y Lawrence (1983) encontraron tres posibles formas alélicas o subunidades en el locus *Glu-A1*, once en el locus *Glu-B1*, seis en el locus *Glu-D1*. Actualmente, según el catálogo de genes y sus actualizaciones (Komugi, 2021, https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassListAction.do?geneClassificationId=339), se han encontrado para los trigos diploides, tetraploides y hexaploides: 53 alelos del locus *Glu-A1*, 83 para el locus *Glu-B1* y 74 para el locus *Glu-D1*. A pesar de este polimorfismo, las variedades comunes de trigo pan pueden presentar de tres a cinco

subunidades de GAPM, claramente distinguibles en geles de poliacrilamida SDS-PAGE (Shewry, 2009).

También en algunos casos se puede producir la ausencia de estas subunidades debido al silenciamiento de los genes codificantes. El locus *Glu-A1* puede no codificar ninguna subunidad o codificar una del tipo x; el locus *Glu-B1* puede codificar sólo la subunidad x o ambas y el locus *Glu-D1* codifica generalmente ambas subunidades (Payne, 1987). Aun así, existe al menos una línea experimental en la cual *Glu-A1* codifica dos subunidades y la línea expresa seis subunidades en total (Rogers et al., 1997).

Un alto porcentaje (30% - 79%) de la variación en la calidad industrial de trigo se puede atribuir a la composición de GAPM de los genotipos, porcentaje que varía de acuerdo con la variación genética presente en cada una de las distintas colecciones de genotipos estudiadas. Por eso los alelos que codifican GAPM son utilizados para explicar, en parte, la calidad industrial de los cultivares. La relación entre la variación alélica en la composición de GAPM y la calidad ha sido analizada por genetistas usando variedades, líneas isogénicas, líneas recombinantes y doble haploides. Numerosos autores han reportado datos al respecto: Payne, 1987; Rogers et al., 1989, 1991, 2001; Carrillo et al., 1990, Gao et al., 2016, entre otros.

La base molecular de las diferencias en calidad que confieren las distintas GAPM está aún en investigación. La secuenciación de ADN de los genes que las codifican ha revelado algunas características de este tipo de proteínas, como lo son el número y la distribución de los residuos de cisteína en las mismas, que juegan un papel muy importante en la formación de polímeros de GLU, porque de ello depende la factibilidad de generar

puentes intermoleculares y la consiguiente expansión del polímero (Lindsay et al., 2000). En base a esto se ha sugerido que la mayor calidad panadera de la harina asociada, por ejemplo, a las subunidades de GAPM Dx5+ Dy10 frente a las subunidades Dx2+Dy12, se debe principalmente a la presencia de un residuo extra de cisteína en la subunidad Dx5 (Lafiandra et al., 1993; Gupta y MacRitchie, 1994).

Por la simplicidad anteriormente mencionada de este grupo proteico, la relación de numerosas subunidades de GAPM con la calidad de las masas ha sido ampliamente estudiada (Payne, 1987; Rogers et al, 1989, 1991, 2001; Gupta y MacRitchie, 1994; Lerner et al., 2009; Liu et al., 2010).

Por su parte, las GBPM tienen un peso molecular entre 30.000 y 51.000 Da, constituyen el 40% del gluten (Gianibelli et al., 2001) y un 60% del total de las gluteninas (Bietz y Wall, 1973; Shuaib et al., 2007). Tienen una influencia significativa en el uso final de la harina de trigo (Wang et al., 2009). Su habilidad para formar puentes disulfuro intermoleculares con otras GBPM y/o con GAPM, es importante para la formación de los polímeros de GLU, que son las moléculas más grandes presentes en la naturaleza. Cuantitativamente se asocian en el polímero con una relación de GAPM y GBPM de 1:2 (Wieser, 2007).

Las GBPM son codificadas por familias multigénicas presentes en los loci *Glu- A3*, *Glu-B3* y *Glu-D3*, en los brazos cortos de los cromosomas 1AS, 1BS y 1DS, cerca de los genes que codifican ciertas Gli, por lo que en parte se heredan en forma conjunta (Metakovsky et al., 1990). Se ha encontrado gran polimorfismo entre las subunidades de

GBPM; se reconocen, según el catálogo de genes, 50 alelos para el locus *Glu-A3*, 29 alelos para el *Glu-B3* y 13 alelos para *Glu-D3* (KOMUGI, 2021).

A pesar de su abundancia, las GBPM, han recibido mucha menos atención que las GAPM, probablemente debido a su complejidad, la heterogeneidad y la co-migración con las GLI en SDS-PAGE (D'Ovidio y Masci, 2004). Aun así, algunos autores como Gupta y MacRitchie (1994) encontraron diferencias en la cantidad total de GBPM, asociadas con formas alélicas específicas, como la causa de diferencias en la calidad de trigo pan.

### 1.2.4 Deposición de proteínas

De los distintos grupos proteicos presentes en el endosperma del grano de trigo, las albúminas y las globulinas comienzan a acumularse desde la antesis hasta 20 días después de antesis (DDA), permaneciendo luego en un nivel constante. En tanto que las proteínas de reserva, GLI y GLU, se comienzan a acumular a partir de sexto día después de antesis y continúan hasta el final del llenado de granos (Stone and Nicolas, 1994; Panozzo et al., 2001). A su vez, se ha reportado que durante el llenado de los granos las GLI comienzan a depositarse antes que las GLU (Stone and Nicolas, 1994; Panozzo et al., 2001; Rondanini et al., 2018), aunque, por lo contrario, Skerritt et al. (1998) detectaron subunidades de GAPM a los 8 DDA, mientras que no detectaron las GLI hasta unos pocos días después que las GAPM.

De lo arriba expuesto, y aun cuando el tiempo preciso de iniciación de la síntesis de las subunidades de las distintas fracciones proteicas no está completamente dilucidado, se puede inferir que la acumulación de las fracciones proteicas que componen el gluten es

asincrónica y que, como consecuencia, la composición cuantitativa de las proteínas del grano cambia durante el desarrollo de los mismos (Triboi et al., 2003).

Se puede establecer que la iniciación de la síntesis de proteínas ocurre dentro de la primera semana después de la antesis, aunque puede depender de una serie de factores ambientales, tales como la temperatura y la nutrición (Panozzo et al., 2001).

Algunos |autores han reportado diferencias en la polimerización de las distintas subunidades de GLU durante el llenado de los granos. Carceller y Aussenac (1999) compararon dos cultivares: Soissons (combinación de subunidades para *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*: 2*, 7+8, 5+10, respectivamente) de buena calidad panadera y Thesee (combinación *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*: nulo, 6+8, 2+12) de calidad pobre[1]. Los autores observaron que, durante el llenado de los granos, la cantidad de GAPM se incrementó más abruptamente para el cultivar Soissons, y además alcanzó un mayor valor a la madurez, que para el cultivar Thesse.

Gupta et al. (1994), evaluando líneas isogénicas, es decir genotipos con un fondo genético común y diferencias de alelos en un solo gen, encontraron que la deposición de las GAPM comenzaba al menos tres días antes en las líneas que presentaban el par 2+12 en el locus *Glu-D1*, y mantenían sus valores hasta la madurez.

En el mismo sentido, Naeem y MacRitchie (2005) comprobaron, tanto en condiciones de campo como en invernáculo, que la cantidad de Glu de las líneas isogénicas que contenían el par 5+10 comenzaron a incrementarse antes en el tiempo que las que

[1] Desde esta sección en adelante se utilizará una designación simplificada de las subunidades proteicas, omitiendo la indicación del tipo de subunidad, correspondiéndose la primera mención a la subunidad x y la segunda a la subunidad del tipo y.

contenían el par 2+12, y a su vez alcanzaron mayores valores a madurez. Además, el valor de desarrollo de la masa, parámetro de calidad obtenido del mixógrafo, también fue mayor en el primer caso.

Para el caso en el que las variantes alélicas fueron del locus *Glu-B1*, las líneas que presentaron el par 7+9, con mayor fuerza de la masa, comenzaron la polimerización de las gluteninas unos días antes que las líneas que presentaron el par 20+20. Es decir que la polimerización temprana y altos valores de cantidad de GLU a madurez se relacionaron con la presencia de GAPM de elevada fuerza de gluten.

Hasta el presente no se ha evaluado el comportamiento para otras subunidades de Glu, ni tampoco se han realizado estudios en este sentido para GBPM/Gli.

### 1.2.5 Efecto de la fertilización con azufre y nitrógeno

Durante el desarrollo del grano, muchos efectos ambientales pueden influir en la calidad final, entre ellos la disponibilidad de nutrientes, por ejemplo, azufre (S) y nitrógeno (N), el calor y el estrés por sequía, las lluvias y los daños por heladas. Está ampliamente difundido el uso de técnicas de fertilización para influir, tanto en el rendimiento como en la calidad del trigo. A su vez, se han reportado diferentes efectos de la disponibilidad de S y N sobre la polimerización de las gluteninas (Naeem et al., 2012).

La deficiencia de S puede provocar, tanto disminuciones en el rendimiento en grano como en la calidad de los mismos (Zhao et al., 1999). Por ejemplo, las relaciones entre las concentraciones en grano de N y S superiores a 17/1 causan bajos rendimientos y

deficiencias en las propiedades de procesamiento de la masa, que conlleva a la necesidad de mezclas con harinas que producen masas más resistentes al estiramiento y menos extensibles (Wrigley et al., 1984).

Además, cuando la disponibilidad de S es deficiente, las proteínas pobres en S se incrementan a expensas de las ricas en S, es decir, como consecuencia se eleva la relación GAPM/GBPM en los granos y por lo tanto se generan cambios en la calidad (Southan y MacRitchie, 2006).

Con respecto a la oportunidad de aplicación del fertilizante, se ha investigado el efecto de la aplicación de S después de antesis, durante el desarrollo de los granos, y se encontró que la síntesis y acumulación de las proteínas de reserva comenzó más temprano en los granos que tenían deficiencia de S que en los que tenían mayor disponibilidad. Esto puede deberse a que la deficiencia de S acorta la fase inicial de desarrollo del grano que se caracteriza por una alta tasa de división celular y una baja tasa de acumulación de proteínas (Zhao et al., 1999).

Por lo tanto, la nutrición con S tiene importantes efectos en la composición de las proteínas de reserva de los granos, pero poco efecto sobre la concentración total de proteínas. La presencia de proteínas S-ricas y S-pobres permite mantener altos niveles de proteínas de reserva a pesar de las variaciones en la disponibilidad de S.

En términos generales, se ha demostrado que deficiencias de S provocan finalmente, a cosecha, menores rendimientos y pobre calidad industrial, resultando en masas menos extensibles y más resistentes a la extensión dando panes de menor volumen y de textura pobre (Jarvan et al., 2012).

Con respecto a la disponibilidad de N, que es el nutriente más comúnmente aplicado como fertilizante al cultivo de trigo, se han demostrado ampliamente efectos positivos sobre el rendimiento en grano (Lerner et al., 2016; Reussi Calvo et al., 2006) y también se han encontrado diferencias en la cantidad (Landriscini et al., 2015) y calidad de las proteínas en el grano maduro como resultado de la fertilización con N. Zhang et al. (2016) reportaron que un cultivar de trigo pan creciendo con 240 Kg $ha^{-1}$ de N aportado por fertilización a la siembra, presentó un aumento del contenido total de proteínas del grano y también en la concentración de GLU y GLI respecto de un testigo sin fertilización.

Altenbach et al. (2016) observaron en un cultivar de trigo con fertilización pos-antesis de 20:20:20 de N:P:K, el doble del contenido de proteínas en la harina resultante, respecto al mismo cultivar sin fertilización pos-antesis. También encontraron efectos positivos sobre el tamaño del polímero del gluten y un aumento en la relación GAPM/GBPM.

En ensayos a campo, Yue et al. (2007) encontraron siete días de diferencia en el comienzo de la acumulación de la fracción de GAPM entre dos cultivares con diferente composición y que esta respuesta se mantuvo para cinco tratamientos de fertilización con N. No obstante, el contenido individual de GAPM en ambos cultivares mostró diferentes patrones durante el llenado de granos en respuesta a la dosis de N.

Chope et al. (2014) hallaron que la cantidad de GLI se incrementó en una pequeña proporción entre los 28 y 35 DDA, comparado con los rápidos cambios registrados entre los 21 y 28 DDA o entre los 35 y 42 DDA, en tratamientos fertilizados con N. Este pequeño incremento durante el desarrollo de los granos fue sólo registrado para tres de los

seis cultivares estudiados. En el mismo experimento, los cambios observados en las GBPM fueron inversos a los de las GLI. En ambos grupos la respuesta frente al agregado de dosis crecientes de N fue en el mismo sentido durante el crecimiento de los granos, en tanto que no fue así para la fracción de GAPM.

Asimismo, se han reportado diferencias entre cultivares con determinada composición de GAPM; por ejemplo, Malik et al. (2008) encontraron a madurez diferencias en la cantidad y distribución de las proteínas poliméricas ante el agregado de N en antesis del cultivo, en variedades de trigo con distinta composición de GAPM (*Glu- D1* 5+10 versus 2+12), siendo mayor en el cultivar con el par 2+12. Esos resultados están en discordancia con Díaz- DellaValle et al. (2006), donde el comportamiento de los genotipos, en respuesta al agregado de N, fue variable a lo largo del llenado.

Por su parte, Liu et al. (2012) encontraron que el incremento de las GAPM de un genotipo durante el desarrollo de los granos fue en el siguiente orden de subunidades 5>10>14>15 y el contenido de cada subunidad presentó diferencias significativas desde el comienzo del llenado hasta pasados los 21 días del mismo.

Para genotipos argentinos, teniendo en cuenta la aplicación combinada de nutrientes, se ha reportado que la aplicación conjunta de N y S es una buena estrategia para incrementar tanto el rendimiento como la calidad de los granos de trigo, aunque la respuesta de variedades pertenecientes a los distintos grupos de calidad resuló diferente (Fernandez et al., 2007). En un ensayo con cultivares de GC1 y GC3, Fernandez et al. (2007) reportaron que la aplicación de 100 Kg $ha^{-1}$ de N resultó en mayores rendimientos los cultivares del GC3, mientras que, a dosis máxima de fertilizante con N y S (50Kg $ha^{-1}$ +

24 Kg $ha^{-1}$ de S), no se presentaron diferencias en el rendimiento en grano entre los GC. En tanto que el volumen de sedimentación en SDS (sodium dodecyl sulfato) aumentó en los dos grupos de calidad, cuando se aplicaron las dosis máximas de fertilización N y S en macollaje.

Aunque en la actualidad está difundida la práctica de fertilización combinando N y S como fertilización de base o en etapas tempranas de cultivo (Loewy et al., 2008), no está estudiada al mismo punto la aplicación foliar combinada de N y S en etapas más tardías del ciclo, tendientes a mejorar la calidad de los granos. Por todo lo mencionado es que esta tesis intentará aportar conocimiento sobre cómo la fertilización complementaria con N y S influye sobre la deposición de los grupos proteicos que forman el gluten y, a su vez, cómo incide sobre la calidad final y el rendimiento de distintos genotipos de trigo con diferente composición del gluten.

En base a los antecedentes planteados, se proponen las siguientes hipótesis y objetivos:

### 1.3 Hipótesis

- Variedades de trigo pan pertenecientes a distintos grupos de calidad (GC1, GC2 y GC3) muestran diferencias en el patrón de acumulación de las fracciones que conforman el gluten en respuesta a la fertilización complementaria (con N y S).

- Dentro de las fracciones proteicas que conforman el gluten de genotipos de trigo pan existen diferencias en su patrón de acumulación en respuesta a la fertilización

complementaria (con N y S), que son explicadas por las subunidades participantes. Subunidades asociadas a mejor calidad panadera mostrarán incrementos en la concentración en grano en respuesta a la fertilización N/S, a igual incremento de rendimiento.

- El efecto que las prácticas de fertilización complementaria (con N y S) sobre las distintas fracciones y subunidades proteicas del gluten de variedades argentinas de trigo pan pertenecientes a los distintos GC determina respuestas diferenciales en la calidad panadera.

### 1.4 Objetivo general:

Contribuir al conocimiento del proceso de acumulación de las diferentes fracciones proteicas que conforman el gluten (GAPM, GBPM y GLI) durante el llenado de granos de genotipos de trigo pan con diferentes perfiles proteicos y su relación con la calidad final y el rendimiento, en respuesta a la fertilización complementaria con N y S.

### 1.5 Objetivos específicos:

Nº1: Estudiar cómo prácticas de fertilización tradicionales (con N) y complementaria (con N y S) afectan al rendimiento en grano de variedades argentinas de trigo pan de distintos GC.

N°2: Analizar cómo prácticas complementarias de fertilización (con N y S) afectan la calidad final de variedades de trigo pan de los distintos GC.

Nº3: Estudiar cómo prácticas de fertilización tradicionales (con N) y complementarias (con N y S) afectan la acumulación de las fracciones proteicas que componen el gluten (gluteninas de alto y de bajo peso molecular y gliadinas) de variedades de trigo pan de distintos GC.

Nº4: Profundizar el estudio del efecto de la fertilización tradicional con N, y complementaria con N y S, sobre la acumulación de subunidades contrastantes para los loci *Glu-D1* y *Glu-B1*, expresadas en un fondo genético común con calidad potencial medio, y la calidad final de las mismas.

# CAPÍTULO N°2. CONDICIONES AMBIENTALES

Puesto que en la presente investigación se pretende analizar la incidencia de distintas prácticas de fertilización (una temprana sólo con N, y otra complementaria foliar con N y S), reviste importancia realizar una caracterización y análisis edafo-climático del sitio de los experimentos, debido a que la respuesta a la fertilización depende en gran medida de la disponibilidad de nutrientes del suelo, del potencial de rendimiento de la variedad utilizada y de su adaptación a las condiciones de clima y suelo del sitio.

Todos los datos analizados en el presente capítulo corresponden a las condiciones de clima y suelo durante los tres ensayos a campo realizados en la Chacra de la Facultad de Agronomía de Azul (UNCPBA), ubicada en Ruta Nacional N°3, Km 307 (36º 49’ 53’’ latitud Sur, 59º 53’ 23’’ longitud Oeste), y se retomarán en las discusiones de los capítulos posteriores de esta tesis.

Los dos primeros ensayos se realizaron en los años 2014 y 2015, respectivamente, y corresponden a un mismo experimento repetido en años sucesivos; para una mejor organización se presentan los datos en conjunto. El tercer ensayo corresponde a un experimento diferente realizado en 2018, en el que se intentó profundizar la investigación sembrando líneas isogénicas de trigo.

Los datos climáticos fueron aportados por el Centro Regional de Agrometeorología y los datos de suelo por el Laboratorio de análisis de suelos, ambos pertenecientes a la mencionada Facultad.

## 2.1 Datos históricos

La caracterización climática del sitio donde se realizaron los ensayos se observa en la figura 2.1, elaborada con datos históricos provenientes de los Boletines Agrometeorológicos de la Facultad de Agronomía de Azul (UNCPBA). Cabe aclarar que se consideran los datos entre los meses de julio y diciembre porque comprenden el ciclo del cultivo de trigo en la región.

Las precipitaciones en el segundo semestre del año para el partido de Azul rondan los 418 mm. Las temperaturas máximas van desde los 12,6 °C en el mes de julio hasta los 26,9°C en diciembre; en tanto que las temperaturas mínimas van desde 1°C hasta 12,4°C en el mismo período (Figura 2.1).

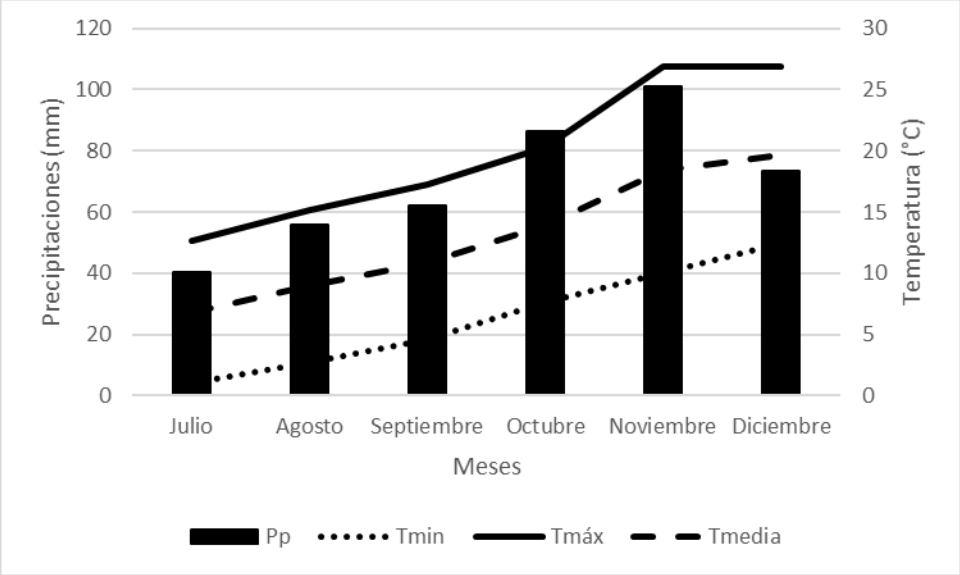



Figura 2.1: Datos mensuales históricos (medias del período 1994-2016) de precipitaciones y temperaturas máximas, medias y mínimas desde julio a diciembre en la región Centro del Partido de Azul (Boletines Agrometeorológicos del Centro Regional de Agrometeorología de la Facultad de Agronomía, UNCPBA).

Cabe mencionar que los requerimientos hídricos del cultivo de trigo en zonas templadas son de 500-550 mm durante su ciclo, la temperatura base (por encima de la cual existe desarrollo) es de 0°C y las temperaturas óptimas de desarrollo oscilan entre los 10°C y 24°C (Miralles et al., 2014), por lo que se podría considerar que el rango de temperaturas experimentadas por el cultivo de trigo en la zona se encuentra dentro del rango apropiado para la producción de trigo, evitando así un excesivo aumento de la tasa de desarrollo que podría acortar la duración de las etapas fenológicas, afectando de forma negativa el ciclo del cultivo y por lo tanto su rendimiento (Slafer et al., 2004).

A pesar que la disponibilidad de agua del sitio está un poco por debajo de los requerimientos considerados óptimos como se mencionó en el párrafo anterior, es de destacar que se siembran aproximadamente 54.031 has de trigo en el partido de Azul, con un rendimiento promedio de 3626 kg $ha^{-1}$, superando el promedio del país que fue de 2582 kg $ha^{-1}$, para la misma serie de años analizadas (desde 1994 a 2016, Ministerio de Agricultura, ganadería, pesca y alimentación), lo que indicaría la aptitud agroecológica de la zona para la producción del cereal en cuestión.

## 2.2 Condiciones agrometeorológicas y de suelo durante los años 2014 y 2015 en el sitio de los experimentos

Las precipitaciones en el año 1 (492mm) fueron superiores a las del año 2 (399mm) (Figura 2.2), superando a su vez en el primer caso al promedio histórico (Figura 2.1) y encontrándose muy próxima a los 500 mm, que sería aproximadamente lo que requiere el

cultivo de trigo durante su ciclo en condiciones normales de crecimiento (Slafer et al., 2004).

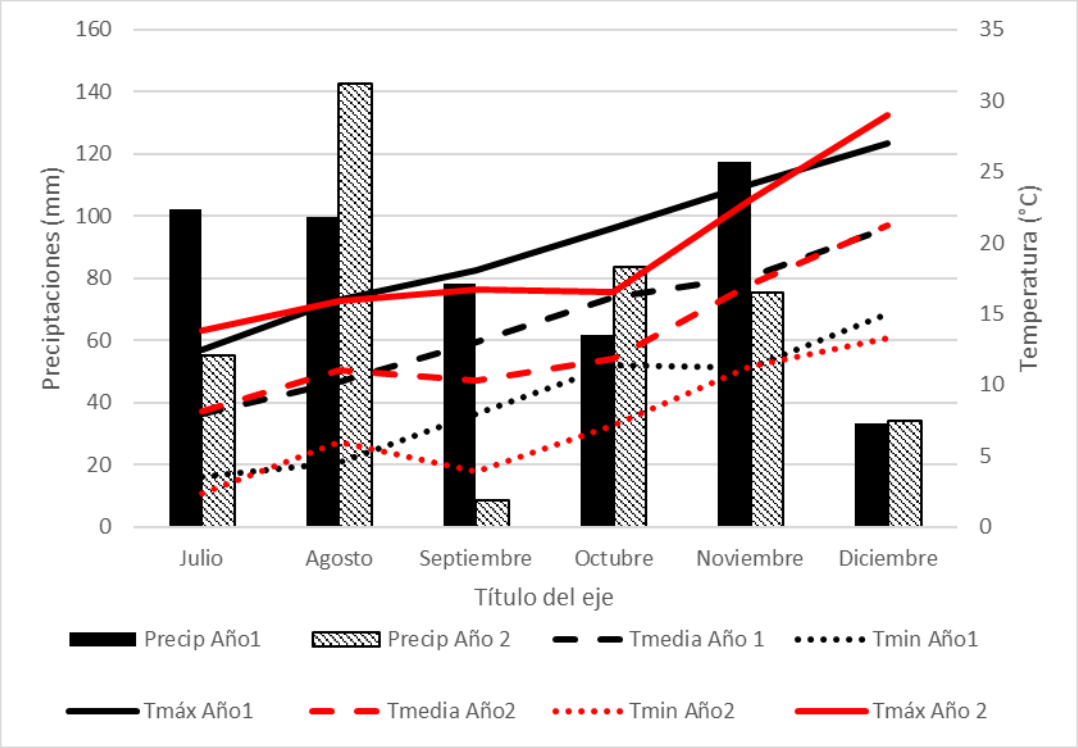



Figura 2.2: Precipitaciones y temperaturas máximas, medias y mínimas mensuales desde julio a diciembre, en los dos años de ensayos (Año 1 corresponde a 2014 y Año 2 corresponde a 2015).

Con respecto a las temperaturas del año 1, en el mes de agosto, solo se registraron 5 heladas posteriores a la fecha de siembra del cultivo y hubo 3 días con temperaturas superiores a los 30°C en el mes de Noviembre (los días 15, 17 y 18) y 9 en diciembre (4, 6, 18, 19, 25, 26, 27, 28, 29 y 30). En tanto que en año 2 hubo 7 heladas durante el ciclo, registrándose la última el día 27 de septiembre, y 12 días con temperaturas elevadas, superiores a los 30°C en el mes de diciembre (9, 10, 11, 12, 13, 22, 25, 26, 27, 28, 29 y 30).

Por lo tanto, el año 1 resultó con temperaturas más templadas que el segundo, es decir con temperaturas menos limitantes para el crecimiento y el desarrollo del cultivo. Cabe mencionar que las heladas en los dos años ocurrieron temprano durante el ciclo del cultivo, es decir previas a inicio de encañazón. En cuanto a las temperaturas elevadas, por encima de los 30°C, ocurrieron solo en 5 días durante el llenado de los granos en los dos años. Cabe destacar que en el año 2 las altas temperaturas se sucedieron en un período de 5 días consecutivos, llegando a tener un pico máximo de 34,5°C.

Adicionalmente se cuenta con el índice de estrés hídrico, calculado por el Centro Regional de Agrometeorología de la Facultad de Agronomía (Cuadro 2.1). Estos datos indican que en el año 1 hubieron menos semanas con estrés hídrico “Muy fuerte” con respecto al año 2, si consideramos hasta la segunda semana del mes de diciembre que fue cuando se produjo la madurez fisiológica en ambos años. Asimismo, existieron 8 semanas durante el segundo año, correspondientes a los meses de octubre y noviembre, en que no hubo estrés hídrico.

Cuadro 2.1: Índice de estrés hídrico (E.H.) semanal de los cultivos para la región Centro del partido de Azul, desde julio a diciembre, en los dos años de ensayos (Año 1: 2014 y Año 2: 2015).

| Mes | Semana | Año 1 | Año 2 |
|---|---|---|---|
| | | E. H | E. H |
| Julio | 1° Semana | Sin estrés | Sin estrés |
| Julio | 2° Semana | Sin estrés | Sin estrés |
| Julio | 3° Semana | Estrés Leve | Estrés Leve |
| Julio | 4° Semana | Sin estrés | Sin estrés |
| Agosto | 1° Semana | Estrés Leve | Sin estrés |
| Agosto | 2° Semana | Estrés Leve | Sin estrés |
| Agosto | 3° Semana | Estrés Leve | Estrés Leve |
| Agosto | 4° Semana | Sin estrés | Estrés Leve |
| Septiembre | 1° Semana | Sin estrés | Muy fuerte |
| Septiembre | 2° Semana | Estrés Leve | Muy fuerte |
| Septiembre | 3° Semana | Estrés Leve | Muy fuerte |
| Septiembre | 4° Semana | Estrés Leve | Muy fuerte |
| Octubre | 1° Semana | Estrés Leve | N/D[1] |
| Octubre | 2° Semana | Muy fuerte | N/D |
| Octubre | 3° Semana | Estrés fuerte | N/D |
| Octubre | 4° Semana | Sin estrés | N/D |
| Noviembre | 1° Semana | Sin estrés | N/D |
| Noviembre | 2° Semana | Muy fuerte | N/D |
| Noviembre | 3° Semana | Estrés Leve | N/D |
| Noviembre | 4° Semana | Estrés Leve | N/D |
| Diciembre | 1° Semana | Muy fuerte | Estrés fuerte |
| Diciembre | 2° Semana | Estrés Fuerte | Estrés fuerte |
| Diciembre | 3° Semana | Muy fuerte | Estrés fuerte |
| Diciembre | 4° Semana | Muy fuerte | Muy fuerte |

[1] N/D Dato no disponible

En cuanto al suelo donde se desarrollaron los experimentos, se trató de un Argiudol típico, con una profundidad efectiva superior al metro. Los análisis realizados previos a la siembra en los dos años arrojaron como resultado una baja disponibilidad de P en el primer año, ascendiendo a casi el doble en el segundo año resultando moderada; en el caso de S

fue similar en los dos años en los primeros centímetros del perfil (0-20cm), pero superior en la mayor profundidad el primer año (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2: Datos provenientes del análisis de suelo (pH, Materia orgánica, Fósforo, Sulfatos y Nitrógeno) en las profundidades 0-20cm y 20- 40cm, en los dos años de experimentos (el año 1 corresponde al año 2014 y el año 2 a 2015).

| Año | Prof. (cm) | pH | Mat.Org. (Walkley & Black) % | Fósforo (Bray & Kurtz I) ppm | $S\text{-}SO4^{2-}$ (Turbidimetría) ppm | Nitrógeno Kg N/ha |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0-20 | 5,93 (mod. ácido) | 3,51 (Bajo) | 7,43 (Bajo) | 17,9 (Moderado) | 14,46 (Bajo) |
| | 20-40 | | | | 15,4 | 8,01 |
| 2 | 0-20 | 6,9 (Neutro) | 3,51 (Bajo) | 13,84 (Mod. ) | 17 (Moderado) | 18,62 (Bajo) |
| | 20-40 | | | | 8,35 | 16,26 |

Si bien el laboratorio de suelos clasifica los niveles de S en los primeros 20 cm de profundidad como moderados, según Reussi Calvo et al. (2020) suelos con disponibilidades menores a 45 kg S-SO4 en los primeros 20cm de perfil, es probable que muestren respuesta en el rendimiento si se fertiliza al cultivo de trigo con un fertilizante que aporte S.

Cabe mencionar que en general las deficiencias de S se observan asociadas a suelos con bajo contenido de materia orgánica y con un prolongado uso agrícola, debido a que el 95% o más del S total del suelo se encuentra en formas orgánicas y su suministro al cultivo es altamente dependiente de los procesos de mineralización-inmovilización en el suelo, al igual que el N (García y Reussi Calvo, 2014).

Con respecto al nivel de N disponible a la siembra, éste resultó bajo en los dos años de ensayos, siendo 22,47 kg $ha^{-1}$ en el año 1 y 34,88 kg $ha^{-1}$ en el año 2, cuya diferencia (12,41 kg $ha^{-1}$) equivaldría a 414 kg $ha^{-1}$ de rendimiento de trigo, considerando que el cultivo requiere aproximadamente 30 kg de N $ha^{-1}$ cada 1000 kg de granos (Reussi Calvo et al., 2020).

En relación con la disponibilidad de N en el suelo, García y Reussi Calvo (2014), citan que en bajos niveles de disponibilidad de N en el suelo, el agregado de N incrementa principalmente los rendimientos del cultivo de trigo, pero disminuye o no afecta los niveles de proteína en grano; con disponibilidades medias de N el incremento de la oferta de N incrementa simultáneamente el rendimiento y la proteína, y con alta disponibilidad de N en el suelo, el efecto de la aplicación de N se registra solamente en la concentración de proteína en grano.

En base a los resultados de los análisis de suelos realizados en ambos años previos a la siembra sería factible esperar respuesta frente a la fertilización tanto con N, como con N y S.

## 2.3 Condiciones agrometeorológicas y de suelo durante el año 2018

Las precitaciones durante el segundo semestre del año 2018 ascendieron a 488mm, siendo noviembre el mes en el que más precipitaciones se registraron, coincidiendo con los datos históricos (Figura 2.3) y con el período crítico para la definición del rendimiento del cultivo de trigo en la región analizada, es decir alrededor de la floración (Miralles et al., 2014).

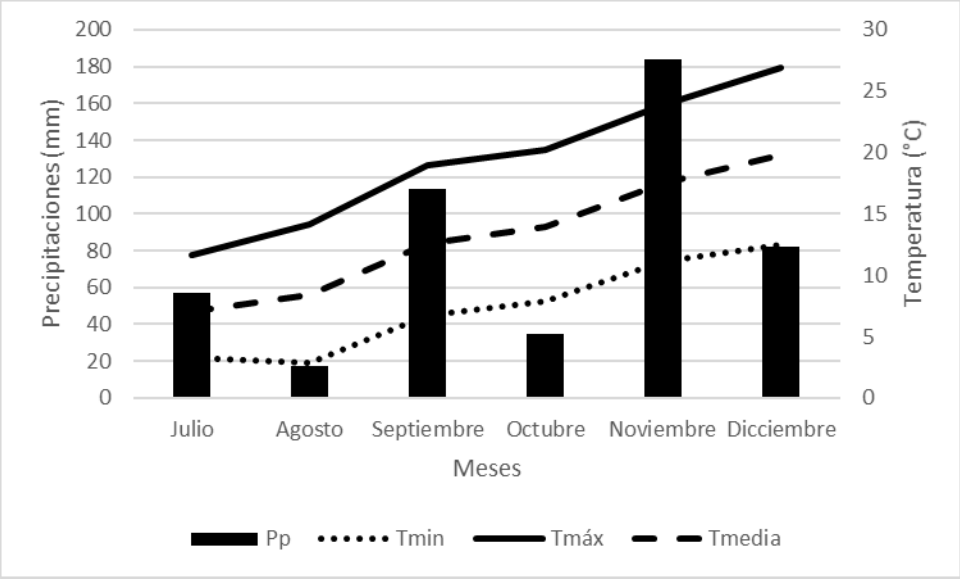



Figura 2.3: Precipitaciones y temperaturas máximas, medias y mínimas mensuales desde julio a diciembre durante el año 2018.

Por su parte las temperaturas (máxima y mínima) también se asemejaron a los datos históricos, la última helada del año fue la segunda semana de septiembre, y, por otro lado, en dos ocasiones en el mes de noviembre (los días 9 y 21) y 9 veces en diciembre (9, 16, 22, 23, 24, 25, 26, 27 y 28) las temperaturas fueron elevadas (>30°C).

Con respecto a las características del suelo resultantes del análisis correspondiente (Cuadro 2.3), se puede mencionar el bajo contenido de materia orgánica, un moderado contenido de P, probablemente resultado de fertilizar con criterio de enriquecimiento de dicho nutriente, también un moderado contenido de S, y una baja disponibilidad de N, lo que limitaría el crecimiento y rendimiento del cultivo según los modelos de respuesta a este nutriente en la región (García y Reussi calvo, 2014) y haría al cultivo altamente dependiente del N provisto por la fertilización para satisfacer sus requerimientos.

Cuadro 2.3: Datos provenientes del análisis de suelo (pH, Materia orgánica, Fósforo, Sulfatos y Nitrógeno) en las profundidades (Prof.) 0-20cm y 20- 40cm, en la Chacra experimental de la Facultad de Agronomía (UNCPBA) en Azul, año 2018.

| Prof. (cm) | pH | Mat.Org. (Walkley & Black) % | Fósforo (Bray & Kurtz I) ppm | S-SO42- (Turbidimetría) ppm | Nitrógeno Kg N/ha |
|---|---|---|---|---|---|
| 0-20 | 5,97 Moderadamente ácido | 3,84 Bajo | 18,94 Moderado | 11,63 Moderado | 7,80 Bajo |
| 20-40 | 5,86 Moderadamente ácido | 2,60 | 15,96 | 15,18 | 9,79 |

# CAPÍTULO N°3. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON N Y COMPLEMENTARIA CON N Y S SOBRE EL RENDIMIENTO EN GRANO DE VARIEDADES ARGENTINAS DE TRIGO PAN DE DISTINTOS GRUPOS DE CALIDAD

## 3.1 Introducción

El rendimiento del cultivo de trigo en una región determinada es la resultante de la interacción entre factores ecológicos, tecnológicos y genéticos. La potencialidad del cultivo de trigo difiere entre distintas regiones productivas debido a factores fundamentalmente climáticos (Calviño y Sadras, 2002). Además, en muchos casos los rendimientos potenciales no se alcanzan debido a una reducida oferta de nutrientes, por lo tanto, la nutrición del cultivo a través de la fertilización es uno de los principales recursos que se manejan para incrementar el rendimiento por unidad de superficie, como así también la calidad final de los granos (García y Reussi Calvo, 2014; Meier et a., 2021).

El N es el nutriente que condiciona en mayor medida el crecimiento y rendimiento del cultivo de trigo. Debe estar bien provisto en cantidad y oportunidad como para asegurar un óptimo estado fisiológico en el periodo crítico para la definición del rendimiento (desde 20 días antes a 10 días después de antesis) (Fisher, R, 1985; Fossati et al., 2011).

Es sabido que, en situaciones de baja disponibilidad de N, el rendimiento del cultivo aumenta por el agregado de este nutriente, mientras que los niveles de proteína en grano no se modifican o disminuyen, en situaciones de disponibilidad media el agregado de N

incrementa simultáneamente los rendimientos y la proteína, y cuando existe alta disponibilidad de N la fertilización con este nutriente provoca solamente un efecto sobre la concentración de proteína en grano (Reussi Calvo et al., 2006).

A su vez, se han encontrado respuestas diferenciales en el rendimiento en grano al agregado de N, en cultivares con distinta calidad potencial. Al respecto, Fernandez et al. (2007) encontraron que dosis de N de 25 Kg $ha^{-1}$ no incrementaron el rendimiento en cultivares de trigo argentinos de GC1, aunque sí aumentó el porcentaje de proteína; por el contrario, dosis creciente de dicho nutriente aumentaron el rendimiento en variedades del GC3, alcanzando en todos los casos similar contenido proteico.

Por su parte, Daba (2017), en un ensayo con cuatro genotipos de trigo y cinco dosis de fertilizante nitrogenado, en dos ambientes distintos, encontró una interacción positiva entre los sitios de ensayo x nivel de N x genotipo, sobre el rendimiento en grano, demostrando los mayores rendimientos en dos de los cultivares, uno de ellos en uno los sitios de ensayo cuando se fertilizó con 90kg N $ha^{-1}$, mientras que el otro genotipo logró su máximo rendimiento cuando se le aplicaron 120 kg N $ha^{-1}$ en el segundo sitio de experimento.

Además de la importancia que reviste el N, tanto para incrementar los rendimientos como la calidad de los granos, resulta relevante considerar el azufre (Loewy et al. 2007, Salomón et al. 2007). El rol del S en el crecimiento y el desarrollo de las plantas es versátil, pero la función más importante es como componente de las proteínas, ya que forma parte de aminoácidos involucrados en su síntesis como son la cisteína y la metionina

(Stankowsky et al., 2019) y de la unión entre aminoácidos, como en la cistina, formada a partir de un puente disulfuro entre dos cisteínas.

Simultáneamente, el fraccionamiento del N y un adecuado balance con S, se condicen con tecnologías de fertilización que responden a demandas ambientales y de la calidad del producto, además de las económicas (Loewy et al., 2008). En términos generales, se ha demostrado que deficiencias de S provocan a cosecha, menores rendimientos y pobre calidad industrial (Jarvan et al., 2012).

En ensayos de fertilización con un cultivar de trigo, Stankowski et al. (2019) reportaron aumentos significativos del número de espigas y del rendimiento, creciendo en condiciones de campo, ante el suplemento de S a través de distintas fuentes; las mayores respuestas se registraron en los casos en que la provisión de S del suelo fue insuficiente.

Además, como mencionan Ventimiglia y Torrens Baudrix (2015), una alternativa es la complementación de la fertilización clásica en etapas tempranas, con una fertilización tardía estratégica, tanto para mejorar el rendimiento como la calidad de los granos.

En el mismo sentido, Tabak et al. (2020), en un experimento con un cultivar de trigo pan de buena calidad, conducido durante tres años en un suelo con baja provisión de azufre, encontraron que la fertilización complementaria con S logró mejorar la recuperación de N aplicado temprano en el ciclo e incrementar el rendimiento en grano.

Por todo lo mencionado, y atendiendo a la creciente importancia de la utilización de buenas prácticas de manejo de la nutrición y fertilización del cultivo de trigo que involucran la elección de la dosis correcta, la fuente apropiada, en la forma y el momento correcto (Divito et al., 2017), en el presente capítulo se aborda el **objetivo específico N°1**:

Estudiar cómo prácticas de fertilización tradicionales (con N) y complementaria (con N y S) afectan al rendimiento en grano de variedades argentinas de trigo pan de distintos grupos de calidad.

## 3.2 Materiales y Métodos

**3.2.1 Cultivares**: Se estudiaron en la presente investigación seis cultivares de trigo pan argentinos, dos pertenecientes a cada grupo de calidad (INASE):

Grupo de calidad 1 (GC1): Klein Proteo y Klein Rayo.

Grupo de calidad 2 (GC2): Buck Pleno y Nidera Baguette 9.

Grupo de calidad 3 (GC3): Buck 75 Aniversario[1] y Klein León.

**3.2.2 Experimentos a campo**: Los ensayos fueron realizados en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires, Azul, Buenos Aires, ubicada en la ruta nacional N°3, Km 307 (36º 49’ 53’’ latitud Sur, 59º 53’ 23’’ longitud Oeste), en dos campañas consecutivas (2014 y 2015). En los dos años (A) la fecha de siembra fue la recomendada para la zona por los criaderos de semillas, siendo el 7 y el 12 de agosto respectivamente. La densidad de siembra fue de 350 plantas $m^{-2}$. La siembra se realizó con sembradora experimental de siembra directa, previa incorporación de fertilizante fosforado, para asegurar suficiencia.

El diseño experimental correspondió a un diseño en 3 bloques (B) completos al azar con parcela dividida, donde la parcela principal fue la variedad (V) y la subparcela fue el

[1] Al momento de defensa de esta tesis B. 75 aniversario se clasifica dentro de GC1

tratamiento de fertilización (F). Cada parcela midió 14 $m^2$, con 7 surcos a 20cm de distancia entre surcos.

Los tratamientos de fertilización fueron: 1) Tratamiento Testigo (T): sin el agregado de fertilizante; 2) Tratamiento Nitrógeno o N: con agregado de 180 Kg $ha^{-1}$ de N, en forma repartida 40% en emergencia del cultivo o Zadoks 1 (Zadoks et al., 1974), y 60% en macollaje o Zadoks 2. La fuente utilizada fue urea, y 3) Tratamiento Nitro-Azufrado o NS: con agregado de urea como en el tratamiento anterior y además la aplicación complementaria de 5 litros $ha^{-1}$ de fertilizante foliar (9% N y 8% S), en estado de bota o Zadoks 4.

Se controlaron malezas, plagas y enfermedades cuando fue necesario. En madurez fisiológica se cosecharon manualmente todas las espigas correspondientes a 1 $m^2$ de cada subparcela y se trillaron con máquina estática. Sobre esos granos se realizó la determinación del rendimiento en grano y sus principales componentes (número de granos por unidad de superficie y peso por granos). El peso por granos se realizó de forma manual, contando y pesando los granos.

El índice de cosecha (IC) se determinó como la proporción de peso entre la materia seca total de las plantas de trigo (sin incluir las raíces), con respecto a la proporción de granos.

**3. 2.3 Análisis estadísticos:** El rendimiento por unidad de superficie, el N° de granos por $m^2$, el peso de los mismos y el Índice de cosecha (IC) en los dos años de ensayos fueron analizados con ANOVA, y las medias se compararon con el test de Fisher ($\alpha$=0,05). El porcentaje de explicación de cada fuente de variación (% Exp.) se calculó como el cociente

entre la suma de cuadrados de la fuente de variación sobre la suma de cuadrados del modelo. El paquete estadístico usado en este caso fue Infostat (Di Rienzo et al., 2019).

## 3. 3 Resultados y Discusión

### 3. 3. 1 Efecto de la fertilización temprana con nitrógeno y foliar complementaria con nitrógeno y azufre sobre el rendimiento

El rendimiento en grano es uno de los objetivos fundamentales de las decisiones agronómicas, y es el producto final de procesos de desarrollo y crecimiento en respuesta a factores genéticos, ambientales, de manejo, y de la interacción entre ellos.

Una de las formas de intentar comprender el rendimiento y de interpretar las causas por las que dichos factores lo afectan es descomponerlo en componentes numéricos, siendo los principales el número de granos por $m^2$ de cultivo y el peso promedio de esos granos (Slafer et al., 2015). Atendiendo a lo mencionado, en el Cuadro 3.1 se presentan los resultados de los análisis estadísticos para las siguientes variables: rendimiento por unidad de superficie (g $m^{-2}$), el número de granos por $m^2$ (NG), el peso por grano (P1000), y el índice de cosecha (IC). Se obtuvieron diferencias significativas en el rendimiento en grano entre los tratamientos de fertilización, entre años y en la interacción F x A, siendo su variación principalmente explicada por los tratamientos de fertilización, coincidiendo con lo reportado por Reussi Calvo et al. (2006) y Sulek et al., (2019). Asimismo, se encontraron diferencias significativas en el NG para las mismas fuentes de variación mencionadas, también explicadas mayormente por los distintos tratamientos de fertilización. Esta respuesta, similar en el rendimiento en grano y en el NG, apoya la fuerte asociación entre

ambos parámetros y la aseveración que indica que el NG es el principal componente numérico del rendimiento en trigo, por sobre el P1000 (Slafer et al., 2004).

Cuadro 3.1**:** Nivel de significancia (Sig.) y porcentaje de explicación (% Exp.) de las distintas fuentes de variación: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Bloque (B), Año (A), y sus interacciones V x F, V x B, V x A, F x B, F x A y V x F x A, para los parámetros analizados: Rendimiento en grano (g $m^{-2}$), Número de granos $m^{-2}$ (NG), Peso/grano (P1000) e Índice de Cosecha (IC).

| **F. V.** | **Rendimiento** | | **NG** | | **P 1000** | | **IC** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Sig.** | **% Exp.** | **Sig.** | **% Exp.** | **Sig.** | **% Exp.** | **Sig.** | **% Exp.** |
| **Variedad (V)** | NS | 5,21 | NS | 10,49 | * | 23,09 | *** | 39,29 |
| **Fert (F)** | *** | 39,00 | *** | 37,70 | NS | 2,37 | * | 3,57 |
| **Bloque (B)** | NS | 1,90 | NS | 1,52 | NS | 3,48 | NS | 3,57 |
| **Año (A)** | ** | 9,15 | ** | 9,32 | NS | 1,13 | *** | 10,71 |
| **V x F** | NS | 5,81 | NS | 5,31 | NS | 12,04 | NS | 3,57 |
| **V x B** | NS | 11,11 | NS | 13,47 | NS | 14,76 | NS | 3,57 |
| **V x A** | NS | 4,87 | NS | 4,58 | NS | 11,03 | *** | 25,00 |
| **F x B** | NS | 4,64 | NS | 6,26 | NS | 5,12 | NS | 1,18 |
| **F x A** | ** | 12,07 | * | 5,76 | ** | 17,03 | NS | 1,11 |
| **V x F x A** | NS | 6,24 | NS | 5,58 | NS | 9,96 | NS | 3,57 |

Los asteriscos *, ** y *** indican el nivel de significancia al 0,1, 0,05 y 0,01 y NS significa no significativo.

Dicha relación entre el rendimiento y el número de granos es la causa por la que el mejoramiento de trigo en nuestro país logró incrementar el rendimiento a través del número

de granos por unidad de área, mientras que el peso de los granos no sufrió grandes cambios a lo largo de los años (Abeledo et al., 2018).

La mencionada asociación entre el rendimiento (g $m^{-2}$) y sus principales componentes numéricos se observa en las figuras 3.1 y 3.2, donde se aprecia que el rendimiento del cultivo está más asociado con el Número de granos ($R^2$=0,9128) que con el peso de los mismos, tal como está ampliamente documentado en la bibliografía (Slafer et al., 2004; Miralles y Slafer, 2007, Bodega et al., 2016).

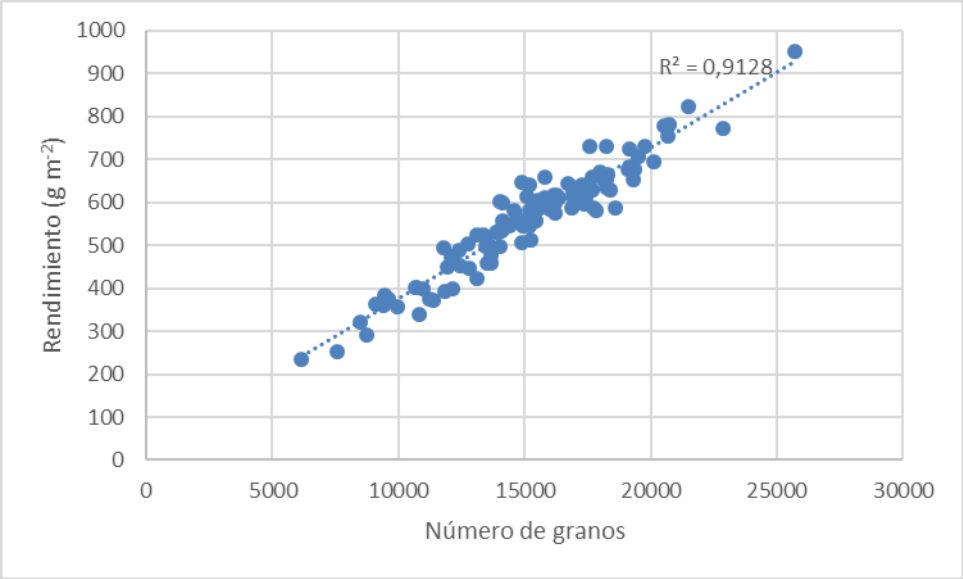



Figura 3.1: Relación entre rendimiento y número de granos de las seis variedades, para los tres tratamientos de fertilización, con todas las repeticiones, en los dos años de ensayos.

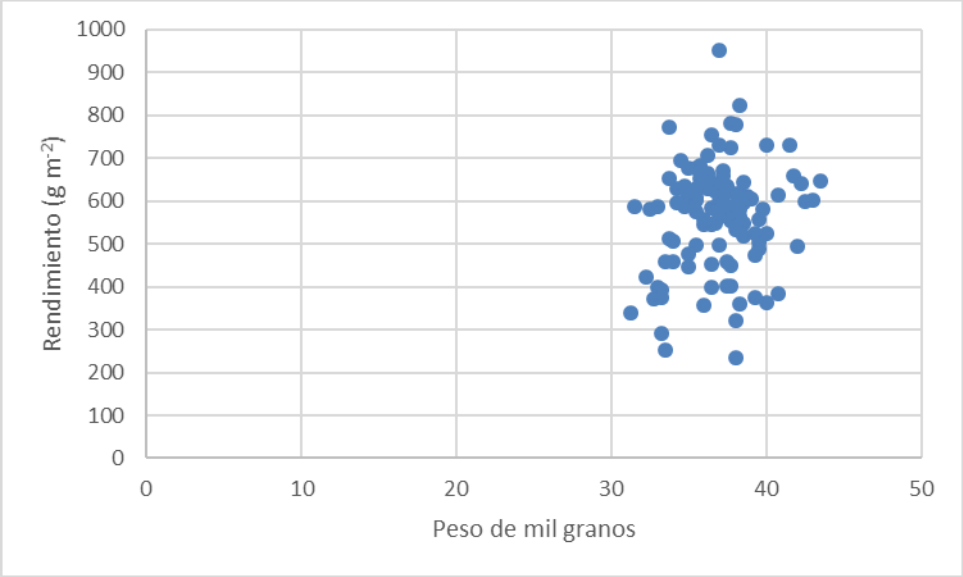



Figura 3.2: Relación entre rendimiento y peso de mil granos de las seis variedades, para los tres tratamientos de fertilización, con todas las repeticiones, en los dos años de ensayos.

Cabe mencionar que, aunque el peso de los granos parece no afectar demasiado al rendimiento, sí puede afectar el valor comercial y la calidad industrial de la producción obtenida (Abbate et al., 2017), temas que se abordarán en el capítulo siguiente.

Por su parte, el peso de los granos presentó diferencias entre variedades, y en la interacción F x A, en tanto que el índice de cosecha mostró diferencias entre las variedades, los tratamientos de fertilización, entre años y en la interacción V x A. En ambos casos las diferencias estuvieron principalmente explicadas por los genotipos (Cuadro 3.1). Cabe mencionar que el importante efecto de las diferentes prácticas de fertilización sobre las variables mencionadas se amplía en secciones posteriores.

Es de destacar que el Año, como fuente de variación, determinó diferencias significativas en casi todos los parámetros, y afectó de manera diferencial la respuesta a la fertilización tanto en el rendimiento en grano como en sus componentes, lo que se tradujo

en una interacción significativa para F x A. Esto era de esperarse puesto que como se mostró en el capítulo N°2 las condiciones ambientales entre los dos años fueron diferentes, en cuanto a la disponibilidad hídrica y temperaturas principalmente. En particular, la interacción V x A para el índice de cosecha explicó una proporción relativamente alta de la variación observada, debido a la variación presente para la materia seca total en los distintos años.

Para el conjunto de genotipos hubo diferencias en rendimiento entre los tratamientos de fertilización (Figura 3.3). Los tratamientos fertilizados con N y NS presentaron incrementos de entre 247.11 g $m^{-2}$ y 186.22 g $m^{-2}$, y 62.22 g $m^{-2}$ y 77.67 g $m^{-2}$ respecto a los testigos en el año 1 año 2, respectivamente; la superioridad de la fertilización complementaria (NS) con respecto a la tradicional (N) no fue consistente entre años, a diferencia de lo reportado por Stankowsky et al. (2019), quienes demostraron que la fertilización con S aumentó el rendimiento de trigo. Esta diferencia podría deberse a que en el experimento desarrollado en Polonia el nivel de S en el suelo fue muy bajo, mientras que en los ensayos realizados en esta investigación el nivel de nutriente en el suelo resultó moderado (Cuadro 2.2, Cap. 2).

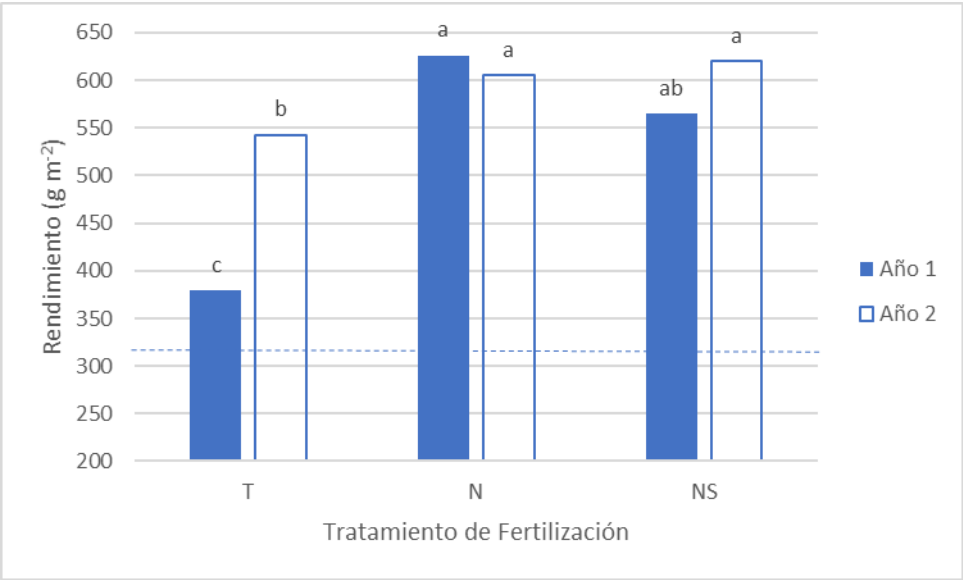



Figura 3.3: Rendimiento (g $m^{-2}$) promedio de seis genotipos argentinos de trigo en tres tratamientos de fertilización: Testigo (T), fertilización nitrogenada (N) y fertilización nitro azufrada (NS), en dos años de ensayos (Año 1 y Año 2). La línea punteada indica el rendimiento promedio de trigo pan en la región central de la provincia de Buenos Aires en la última campaña (Bolsa de Cereales de Buenos Aires, 2021). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0,05).

Los resultados encontrados en la presente investigación coinciden con García (2004), quien menciona que fertilizaciones en etapas avanzadas del ciclo, como ocurrió en este caso en Z4, mejoran más la calidad de los granos que el rendimiento, ya que no se observaron diferencias significativas en el rendimiento entre los tratamientos N y NS (Figura 3.3).

Cabe aclarar que, según el análisis de suelo de los dos años de ensayos, el contenido de N en el perfil fue bajo, y la disponibilidad de S fue moderada (Cuadro 2.2 y 2.3, Capítulo N°2); probablemente esto se relaciona con las respuestas observadas tanto en el rendimiento como en sus componentes numéricos mencionadas anteriormente, resultantes de las distintas prácticas de fertilización.

Además, en el tratamiento T del año 2 se observó un mayor rendimiento que en el año 1 en el mismo tratamiento; aunque se observó una baja disponibilidad de N en el suelo en los dos años en el perfil explorado, el año 2 presentó más de 12 Kg de N $ha^{-1}$ de diferencia con respecto al año 1, lo que podría explicar dicha diferencia en el rendimiento a favor del tratamiento T en el año 2. Esto coincide con los reportado por Dilchneider et al. (2019) quienes mostraron que la disponibilidad de N es el principal condicionante del rendimiento del cultivo de trigo.

Adicionalmente se podría considerar, que además de la menor disponibilidad de N en el primer año, la mayor cantidad de precipitaciones pudieron haber contribuido a la pérdida del nutriente, tanto del presente en el suelo previo a la siembra como del agregado con el fertilizante.

En el Año 1 se produjo un incremento del 65% y del 49% del rendimiento de los tratamientos N y NS, respectivamente, con respecto al tratamiento T, lo que coincide en parte con lo reportado por Reussi Calvo et al. (2020), quienes mostraron un incremento de rendimiento de entre 38%-59% de trigos fertilizados con N y S, en la zona Sur de Santa Fé.

Cabe mencionar además que en los tres tratamientos y en ambos años, se logró superar el rendimiento promedio de trigo en la región central de la provincia de Buenos Aires en la última campaña (2019/2020), que según datos de la Bolsa de Cereales de Buenos Aires ascendió a 3097 Kg $ha^{-1}$, puesto que el valor más bajo obtenido en esta investigación correspondiente al tratamiento T del año 1 logró superar este valor por un 22 %.

### 3. 3. 2 Efecto de la fertilización temprana con nitrógeno y foliar complementaria con nitrógeno y azufre sobre el número de granos y el peso de mil granos

Con respecto al número de granos por metro cuadrado, se observó que ambos tratamientos con aplicación de fertilizantes, tanto con fertilización temprana con N como así también con el aporte complementario de N y S, presentaron una mayor respuesta que los tratamientos Testigo. A su vez se observó en el año 2 superioridad con respecto al año 1 en el tratamiento sin fertilización, similar a las diferencias observadas en el rendimiento en grano (Figura 3.4), tal como era esperable dada la alta correlación observada entre ambas variables.

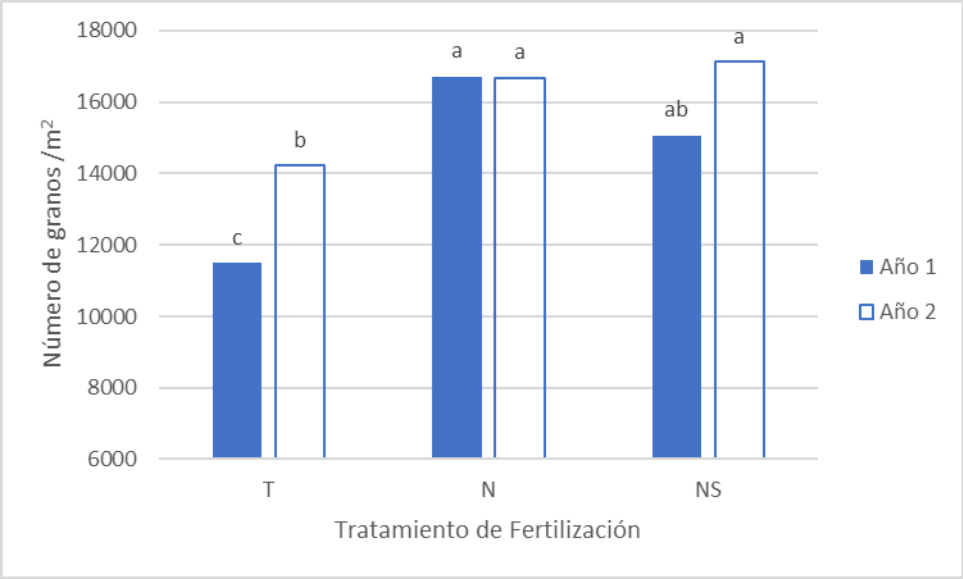



Figura 3.4: Número de granos por metro cuadrado en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS) en los dos años de ensayo. Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0,05).

Por su parte, el peso de los granos difirió entre variedades, resultando mayor en las dos variedades del Grupo de calidad 3: B. 75 Aniversario y K. León. Cabe mencionar

también que en general los cultivares de dicho grupo de calidad se caracterizan por tener un bajo porcentaje de proteínas en grano. Asimismo, entre los otros cultivares no se observaron diferencias significativas (Figura 3.5).

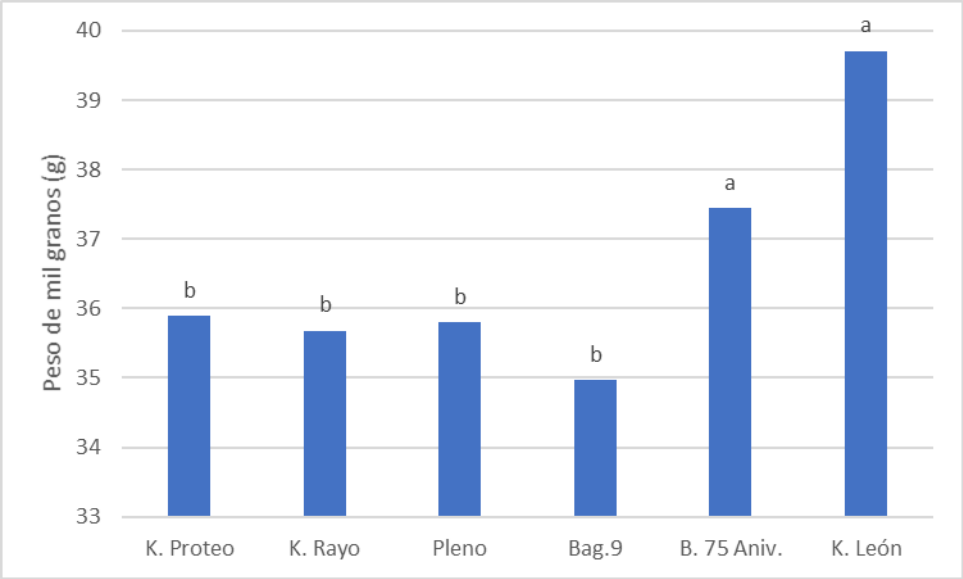



Figura 3.5: Peso de mil granos (P1000) de las distintas variedades analizadas. Datos promedio de diferentes tratamientos de fertilización en dos años de experimentación en Azul, Prov. de Bs. As. Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0,05).

Además, se observaron diferencias en la interacción F x A, resultando menor el peso de los granos en el tratamiento T en el año 1, similar a lo encontrado en el rendimiento y el NG/$m^{-2}$, posiblemente debido a la mayor disponibilidad de N en el perfil del suelo previo a la siembra (Figura 3.6).

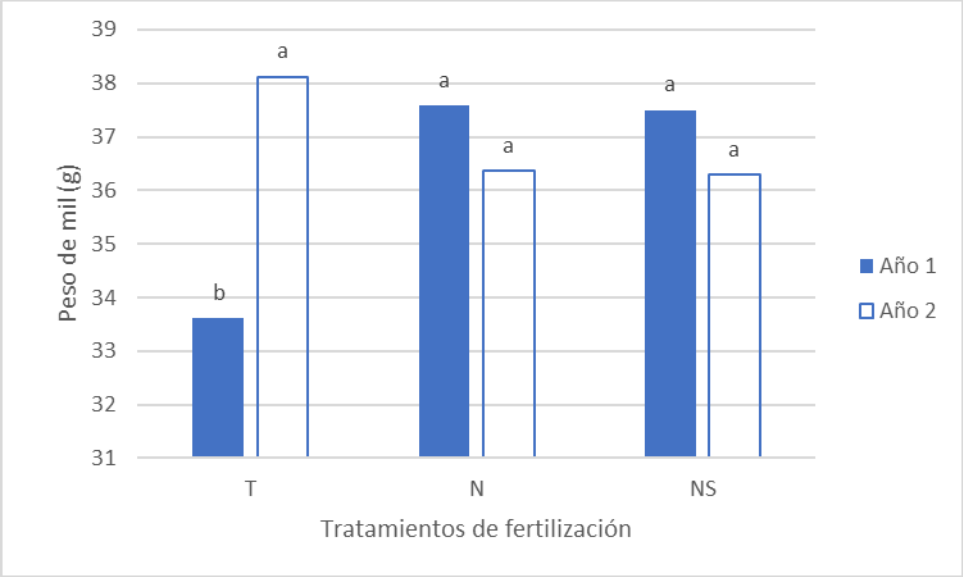



Figura 3.6: Promedio de peso de mil en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS) y en los dos años de ensayos. Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0,05).

### 3. 3. 3 Efecto de la fertilización temprana con nitrógeno y complementaria con nitrógeno y azufre sobre el índice de cosecha (IC)

El índice de cosecha no es un componente numérico del rendimiento como el número y peso de granos, sino que puede entenderse como un componente ecofisiológico del mismo, el cual expresa la proporción de materia seca cosechable en relación a la materia seca total producida.

En los experimentos realizados se encontraron diferencias en el IC entre los tratamientos de fertilización, siendo mayor en el tratamiento fertilizado con NS que en el testigo; también se observaron diferencias entre variedades, entre los dos años y en la interacción V x A, resultando de este modo el efecto de la fertilización similar entre años y entre las variedades (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2: Promedio de Índice de Cosecha (IC) en los dos años de ensayo (Año 1 y Año 2) para las seis variedades analizadas.

| | Año | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Variedad** | **1** | | **2** | |
| K. Proteo | 0,42 | def | 0,39 | f |
| K. Rayo | 0,56 | a | 0,42 | d |
| B. Pleno | 0,50 | b | 0,44 | cd |
| N. Baguette 9 | 0,42 | def | 0,42 | Def |
| B. 75 Aniv. | 0,43 | cde | 0,46 | C |
| K. León | 0,41 | def | 0,40 | Ef |

Letras diferentes indican diferencias significativas.

Los cultivares K. Proteo, N. Baguette 9, B. 75 Aniversario y K. León no presentaron diferencias entre los dos años en el IC, mientras que en K. Rayo y B. Pleno los IC resultaron superiores en el año 1, indicando que ambas variedades destinaron proporcionalmente más fotoasimilados para los órganos cosechables en el primer año, que el resto de los genotipos (Cuadro 3.2).

### 3.4 Conclusión

Podríamos sintetizar que, de los parámetros relacionados con el rendimiento analizados en el presente capítulo, fueron el rendimiento por unidad de superficie y el número de granos $m^{-2}$ los que se encontraron más influenciados por las prácticas de fertilización, mientras que tanto el peso de los granos como el índice de cosecha resultaron más afectados por la componente genética de las variedades analizadas. A pesar de lo mencionado, no se pudo encontrar superioridad de la fertilización foliar complementaria con NS sobre la fertilización tradicional con N, probablemente debido a que la provisión de

dicho nutriente en el suelo era moderada (Cuadro 2.2, Capítulo N°2), sumado a que el aporte de nutrientes a través de la fertilización foliar se realizó en un estado avanzado del cultivo.

Por todo lo analizado en este capítulo, se puede concluir que tanto las prácticas de fertilización temprana con N, como la fertilización foliar complementaria (con N y S) afectaron al rendimiento en grano de variedades argentinas de trigo pan de los tres grupos de calidad, principalmente a través de la incidencia sobre el número de granos.

Pero además del rendimiento por unidad de superficie, y teniendo en cuenta que una de las razones de la amplia difusión del cultivo de trigo es la capacidad de sus granos de ser procesados e incluidos en la dieta humana en una amplia gama de productos (Gao et al., 2016), reviste importancia analizar el rendimiento de los cultivares, en conjunto con la calidad industrial de los mismos, análisis que se aborda a continuación.

# CAPÍTULO N°4. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE LA CALIDAD INDUSTRIAL DE TRIGO PAN DE VARIEDADES ARGENTINAS DE TRIGO PAN DE DISTINTOS GRUPOS DE CALIDAD

## 4.1 Introducción

La calidad final del trigo está determinada por la combinación de la elección de genotipo, la influencia del ambiente y la interacción que pueda existir entre ellos, sin descuidar el manejo agronómico (Sakr et al., 2021). Tratar de entender dichos efectos es importante para la producción y comercialización de partidas de trigo consistentes y de buena calidad (Molfese, 2016).

Cada genotipo de trigo tiene una composición propia de proteínas formadoras del gluten: gliadinas (GLI) y gluteninas (GAPM y GBPM). Las propiedades de hidratación de las harinas dependen principalmente de las gliadinas y las gluteninas, puesto que las primeras les confieren propiedades de extensibilidad, y las segundas les otorgan propiedades elásticas a las masas. Comercialmente son deseables dichas propiedades viscoelásticas, resultado de la contribución combinada de ambos grupos proteicos, para obtener una buena calidad durante el procesado de la harina (Payne , 1987; Southan y MacRitchie, 1999).

Cabe recordar que en Argentina los genotipos comerciales de trigo pan se clasifican de acuerdo a su calidad panadera en trigos de grupo de calidad 1 (GC1), grupo de calidad 2 (GC2) y grupo de calidad 3 (GC3), siendo los primeros aptos para panificación industrial,

los segundos aptos para panificación tradicional, y los últimos son los indicados para panificación directa (Cuniberti, 2004). Es importante destacar que aún dentro de un mismo GC existen diferencias en su composición de GAPM, GBPM y GLI, y por lo tanto en su calidad potencial (Arrigoni, 2015).

Según Cuniberti (2016), los problemas de calidad detectados en cultivares de trigo pan en nuestro país no son debidos a cuestiones genéticas sino a las prácticas de manejo aplicadas al cultivo. Con respecto a los factores ambientales que condicionan mayormente la calidad final de los granos de trigo más analizados, se incluyen las temperaturas, la disponibilidad de agua y de nutrientes, y el momento de aplicación de nitrógeno (N) (DuPont y Altenbach, 2003, Kizilgeci et al., 2019, Valdés-Valdés et al., 2020).

El N es el principal nutriente componente de las proteínas, mientras que el azufre (S) se encuentra en el grano formando parte de los aminoácidos azufrados como cisteína, metionina, cistina y sulfolípidos. La importancia del S radica también en que, los puentes disulfuros (S-S) juegan un papel relevante en la estabilidad de las proteínas (estructura terciaria) presentes en el gluten; por este motivo, la masa se verá afectada por compuestos que contengan en su composición grupos S-H y agentes reductores que no favorezcan las uniones por enlaces disulfuros S-S, modificando las propiedades reológicas del gluten, y también el volumen de pan (Fernández et al., 2007).

El efecto positivo de la aplicación de N en forma de urea en estados avanzados del ciclo del cultivo, sobre el contenido de N del grano es relativamente consistente en la bibliografía (García, 2004; Landolfi et al., 2021), mientras que la influencia en la calidad panadera es variable. En este sentido, Landriscini et al. (2015), han reportado respuestas

pobres a las aplicaciones de urea con efectos negativos en la relación N:S asociados a cambios en las fracciones proteicas del grano. Los mismos autores encontraron efectos más consistentes sobre la calidad panadera cuando mejoraron la nutrición azufrada.

Por su parte Rossmann et al. (2020) encontraron en dos variedades de trigo de origen alemán, que la aplicación de N en etapas tardías del ciclo del cultivo logró incrementar el contenido de proteínas en grano, pero sin llegar a ser proporcional el incremento del volumen de pan.

A su vez, a nivel de cultivo, las deficiencias de N, S y P pocas veces ocurren de forma aislada, sino que se combinan de diversas maneras, por lo que resulta necesario evaluar integralmente la respuesta a la fertilización (Ferraris et al., 2015).

Guerrini et al. (2020) reportaron en un ensayo desarrollado en Italia con tres cultivares antiguos de trigo pan, que la fertilización foliar con S en estado de bota, incrementó la cantidad de proteínas en grano, como así también el contenido de gluten y la fuerza panadera.

Además, se han reportado diferencias entre cultivares en contenido proteico, caracterizados como de alta y baja proteína, difiriendo en la respuesta a la fertilización tardía con N (Varga y Svecnjak, 2006), mientras que en otras investigaciones (Gómez, 2011) se reportaron similares respuestas entre cultivares a la fertilización nitrogenada en estados de desarrollo avanzados del cultivo sobre la cantidad de proteínas, aunque al mismo tiempo fueron detectadas diferencias entre cultivares sobre algunos parámetros reológicos de las masas.

Según Altenbach et al. (2016), encontraron que en un cultivar de trigo con fertilización pos- antesis de 20:20:20 de N:P:K, obtuvo el doble del contenido de proteínas en harina, con respecto al mismo cultivar sin fertilización pos-antesis. Además, encontraron efectos positivos sobre el tamaño del polímero del gluten y un aumento en la relación GAPM/GBPM.

Landolfi et al. (2021) encontraron que la aplicación de fertilizante nitrogenado en la etapa de espigazón de un genotipo de trigo pan, generó un aumento del 1,2% del porcentaje de proteínas, y un incremento del 22% de la fuerza de la masa. Asimismo, Ferrari et al. (2021), en un experimento en el cual compararon la fertilización tradicional al suelo y la fertilización foliar sobre un cultivar de trigo pan de buena calidad panadera, demostraron que dosis bajas de fertilizante foliar aplicado en etapas avanzadas del cultivo (Z62) lograron mejorar el porcentaje de proteína en grano y las características de panificación de las harinas.

Por su parte Agapie et al. (2020) encontraron respuestas significativas en parámetros de calidad con la aplicación de fertilizante azufrado complementario al fertilizante nitrogenado. Los resultados arrojaron una respuesta de 2,8% de incremento en el porcentaje de proteínas y un aumento de 6,5% de gluten.

En el mismo sentido, De Santis et al. (2020) encontraron en una investigación con dos cultivares de trigo y siete tratamientos de fertilización nitrogenada, los que incluyeron también el agregado de S, similar respuesta en rendimiento y porcentaje de proteínas pero diferencias en relación tenacidad/extensibilidad de la masa y composición del gluten.

Por lo mencionado anteriormente, en este capítulo se aborda el **objetivo específico N°2: Analizar cómo prácticas complementarias de fertilización (con N y S) afectan la calidad final de variedades de trigo pan de los distintos GC.**

## 4.2 Materiales y métodos

Los **cultivares** utilizados y el desarrollo de los **experimentos a campo** son los descriptos en el Capítulo 2, en tanto que los parámetros de calidad industrial se determinaron con las siguientes metodologías:

**4.2.1 Porcentaje de proteínas y porcentaje de gluten**: dichos parámetros se analizaron por transmitancia de infrarrojo cercano (NIT) con monocromador de doble haz, en equipo Agricheck. Las muestras utilizadas consistieron en aproximadamente 400 g de granos proveniente de cada subparcela. Dicho equipo se basa en la transmitancia diferencial de luz que tienen las distintas biomoléculas, en este caso las proteínas del grano. El porcentaje de gluten es la resultante de una estimación a partir de las mismas. Por otro lado, el mismo equipo puede determinar el peso hectolítrico a partir del volumen y el peso de la muestra.

**4.2.2 Parámetros reológicos**: se utilizó el equipo Alveógrafo de Chopin (según el método ICC 1992). Las muestras analizadas consistieron en 250 g de harina blanca obtenida de la molienda de los granos cosechados luego de la madurez fisiológica del cultivo en molino experimental. El proceso de análisis consistió en el amasado de la harina a hidratación constante durante 8 minutos, luego se procedió al laminado de la masa y posteriormente se cortaron 5 discos que se dejaron reposar en un compartimento especial hasta que se cumplieron 28 minutos de todo el proceso. Pasado ese tiempo se procedió a insuflar aire a

cada disco produciendo una burbuja y se registró la presión necesaria para inflar la burbuja hasta que se rompió la misma. El resultado obtenido fue un gráfico denominado alveograma, que representa el promedio de las 5 repeticiones de cada muestra analizada, y en el que se pueden observar como principales parámetros la fuerza panadera (W), la tenacidad (P), la extensibilidad (L) y la relación de equilibrio de las masas (P/L) (Figura 4.1).

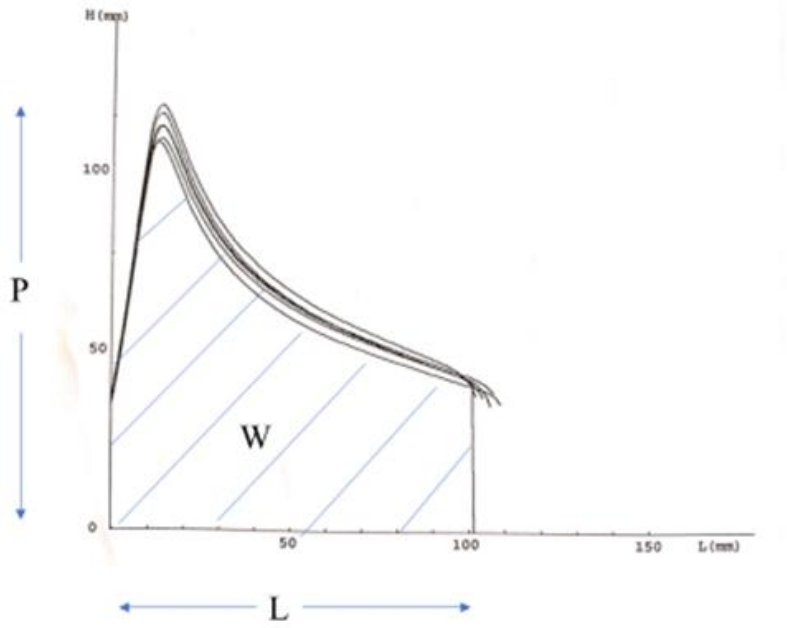



Figura 4.1: Alveograma indicando sus principales parámetros: fuerza de la masa (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y relación entre tenacidad y extensibilidad (P/L).

**4.2.3 Fuerza del gluten**: Se determinó mediante el test de sedimentación en dodecyl sulfato de sodio (SDSS) modificado por Dick y Quick (1983). Este método, se clasifica dentro de los métodos aproximados u orientativos más utilizados para estimar la calidad industrial de trigo. Para dicho análisis se utilizaron muestras de harina integral (1g) obtenidas en molinillo para granos.

El test consistió en hidratar la harina y luego mezclarla con un reactivo que contenía ácido láctico y dodecyl sulfato de sodio, agitar para hidratar todas las partículas y dejar sedimentar. El almidón y las proteínas solubles (albúminas y globulinas) se disuelven en la solución, en tanto que las proteínas que conforman el gluten (gliadinas y gluteninas) absorben agua, se hinchan y precipitan, por lo tanto, cuanto mayor sea el volumen de sedimentación obtenido, habrá mayor cantidad de proteínas formadoras de gluten y mayor será su calidad. El resultado se expresa como fuerza del gluten.

**4.2.4 Análisis estadístico**: Todos los parámetros medidos en los dos años de ensayos fueron analizados con ANOVA, y las medias se compararon con el test de Fisher ($\alpha$=0,05). El paquete estadístico usado fue Infostat (Di Rienzo et al., 2019).

## 4.3 Resultados y discusión

### 4.3.1 Incidencia de la fertilización tradicional con nitrógeno y complementaria con nitrógeno y azufre sobre el peso hectolítrico (PH), la cantidad de proteínas (% P) y el gluten (%GH).

Teniendo en cuenta todas las fuentes de variación del modelo estadístico utilizado, las cuales se pueden observar en el Cuadro 4.1, el peso hectolítrico (PH) presentó diferencias significativas entre variedades y entre años, en tanto que el porcentaje de proteínas difirió entre variedades, tratamientos de fertilización, años, y también en las interacciones V x A y F x A. El porcentaje de gluten húmedo presentó diferencias entre los factores principales y en la interacción F x A.

Cuadro 4.1: Nivel de significancia (Sig.) y Porcentaje de explicación (%Exp.) de la varianza de las variables Peso hectolítrico (PH), porcentaje de proteínas (%P) y porcentaje de gluten húmedo (%GH) en función de las fuentes de variación: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Bloque (B), Año (A) y sus interacciones V x F, V x B, V x A, F x A y V x F x A.

| F. V. | PH | | % P | | %GH | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sig. | % Exp. | Sig. | % Exp. | Sig. | % Exp. |
| **Variedad (V)** | *** | 32,99 | *** | 39,00 | *** | 23,27 |
| **Fert (F)** | NS | 3,73 | *** | 27,15 | *** | 21,36 |
| **Bloque (B)** | NS | 1,17 | NS | 0,06 | NS | 0,49 |
| **Año (A)** | *** | 11,39 | *** | 11,40 | *** | 35,45 |
| **V x F** | NS | 4,56 | NS | 2,87 | NS | 4,77 |
| **V x B** | NS | 7,53 | NS | 2,15 | NS | 3,08 |
| **V x A** | NS | 8,59 | ** | 4,86 | NS | 1,14 |
| **F x B** | NS | 3,49 | NS | 0,33 | NS | 0,30 |
| **F x A** | NS | 2,08 | ** | 4,61 | * | 2,21 |
| **V x F x A** | NS | 16,91 | NS | 2,96 | NS | 3,48 |

Los asteriscos *, ** y *** indican el nivel de significancia al 0,1, 0,05 y 0,01 y NS significa no significativo.

El PH medio más alto lo obtuvo la variedad K. Proteo (83,19 kg $hl^{-1}$), mientras que el valor más bajo lo presentó N. Baguette 9 (77,43 kg $hl^{-1}$) (Cuadro 4.2). Cabe mencionar que según la norma de comercialización de trigo pan vigente en Argentina (Norma XX, Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentos), todas las variedades, excepto N. Bag. 9, entrarían en el grado 1 del estándar (PH > 79 kg $hl^{-1}$) por lo que estarían en condiciones de percibir una bonificación del 1,5%, de cumplirse los mínimos requisitos de los demás rubros de calidad (% Materias extrañas, % Granos ardidos, % Total dañados, % Granos con carbón, % Granos panza blanca, % Granos quebrados). Por otro lado, hubo un efecto importante del año (Cuadro 4.1) sobre el PH, en el año 2 se alcanzó un valor superior respecto al primer año (Cuadro 4.3). Los resultados encontrados coinciden con lo reportado por Mortarini et al. (2004) quienes encontraron que el efecto de la variedad fue superior al

efecto del ambiente sobre el peso hectolítrico de los granos. En trigo el PH determina en gran medida el rendimiento en harina que se obtendrá luego de la molienda, de ahí la importancia de este parámetro para la industria.

Cuadro 4.2: Valor promedio de peso hectolítrico (PH) de las variedades analizadas. Entre paréntesis figura el grupo de calidad según INASE.

| **Variedad** | **PH (kg hl$^{-1}$)** | |
|---|---|---|
| Klein Proteo (GC1) | 83,19 | ab |
| Klein Rayo (GC1) | 81,31 | b |
| Buck Pleno (GC2) | 84,26 | a |
| Baguette 9 (GC2) | 77,43 | c |
| Buck 75 Aniversario (GC3) | 82,12 | ab |
| Klein León (GC3) | 81,87 | ab |

Letras distintas indican diferencias significativas.

Cuadro 4.3: Valor promedio de peso hectolítrico (PH) en los dos años de ensayos, correspondiente a las seis variedades analizadas y los tres tratamientos de fertilización.

| **Año** | **PH (kg hl$^{-1}$)** | |
|---|---|---|
| 1 | 80,42 | b |
| 2 | 82,98 | a |

Letras distintas indican diferencias significativas.

Cabe mencionar que, de todos los parámetros de calidad de los granos analizados en este capítulo, el peso hectolítrico es el único que no resultó afectado por las prácticas de fertilización, aunque sí se vio afectado por las características climáticas propias de cada año de experimento (Cuadro 4.1).

Como se mencionó anteriormente, aunque el PH es importante para la calidad comercial de los granos de trigo pan, no lo es directamente para la calidad industrial, sino que resulta un estimador indirecto de la sanidad, de las relaciones fuente/destino durante el llenado de granos y del rendimiento en harina de los granos (Baasandorj et al., 2015; Martinez Cruz et al., 2017).

En cuanto al porcentaje de proteínas en grano, la magnitud de las diferencias observadas entre cultivares concordaron con Vázquez et al. (2019), quienes reportaron resultados similares en un ensayo con distintos trigos de origen uruguayo. Adicionalmente, también Nehe et al. (2020), reportaron diferencias entre genotipos, y entre tratamientos con elevado y bajo contenido de N, en un experimento con 28 genotipos de origen indio, que en términos relativos resulta similar a lo encontrado en esta investigación.

El porcentaje de proteínas fue diferente entre años (Cuadro 4.4) y entre tratamientos de fertilización, en distinta magnitud, lo que determinó una interacción F x A significativa; mientras que en los testigos el valor fue relativamente similar entre años, en ambos tratamientos con agregado de fertilizante (N y NS) el comportamiento fue diferente, resultando superiores los valores en el año 1. Esta respuesta se distingue de lo analizado en el capítulo anterior sobre el rendimiento en grano donde no se encontraron diferencias entre tratamientos fertilizados entre años, en tanto que la mayor diferencia se observó entre los testigos (Figura 3.3-Cap. N°3).

Cuadro 4.4: Porcentaje de proteínas en los tres tratamientos: Testigo (T), con fertilización nitrogenada (N), fertilización nitrogenada tradicional y complementaria foliar con N y S (NS), en los dos años analizados (Año 1 y Año 2). Los datos son la media de 6 variedades de trigo analizadas en esta tesis.

| **Año** | **T** | | **N** | | **NS** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10,20 | d | 12,79 | a | 12,00 | b |
| 2 | 9,96 | d | 10,99 | c | 11,01 | c |

Letras diferentes indican diferencias significativas.

Asimismo, en ambos años, los dos tratamientos fertilizados (N y NS) presentaron mayores de %P que el tratamiento T. En el año 1 el incremento con respecto al tratamiento sin fertilizante fue de 25,39% y 17,64% de los tratamientos N y NS respectivamente; en tanto que en el año 2, fue de 10,34% y 10,54%. Estos resultados eran esperables puesto que las proteínas de los granos están principalmente formadas por N, y también muchas incluyen S en su composición.

El porcentaje de proteínas según la norma de comercialización de trigo pan en nuestro país (Norma XX, Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentos), es un rubro de condición, por lo que no clasifica a la mercadería en ninguno de los grados, pero puede por sí mismo generar una bonificación si el porcentaje de proteínas resulta superior al valor considerado base de 11% (siempre que el PH>75kg $hl^{-1}$), y asimismo si los valores resultan inferiores a dicho valor les corresponde un descuento. Por lo tanto en el año 1, según el Cuadro 4.4, les correspondería una bonificación a los tratamientos N y NS, mientras que en el año 2 solo el tratamiento NS tendría una mínima bonificación, mientras que en los tratamientos T y N tendrían descuentos.

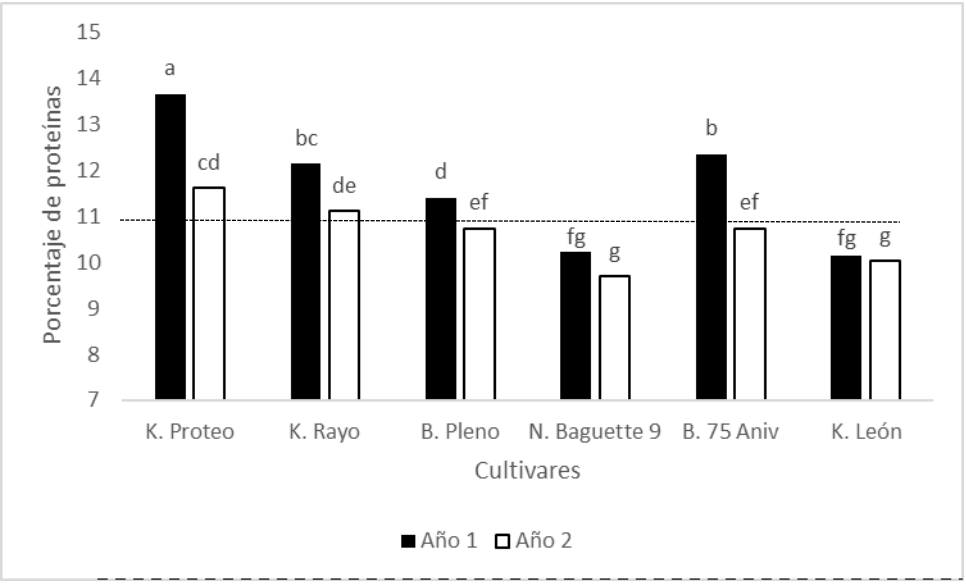



Figura 4.2: Porcentaje de proteínas de los granos de las distintas variedades en los dos años de ensayos. Los datos son la media de tres tratamientos de fertilización (T, N, NS). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05). La línea punteada indica 11% de proteínas, que es el valor base de la norma de comercialización de trigo pan en Argentina.

Si se analiza el comportamiento de cada variedad en los dos años, se puede observar que las variedades de GC1 obtuvieron en los dos años un porcentaje de proteínas superior a la base de 11%, mientras que los cultivares de GC2 tuvieron un mayor porcentaje de proteínas en el año 1; en este caso, B. Pleno logró superar la base, mientras que N. Bag. 9 no alcanzó 11% en ninguno de los dos años. Similar comportamiento a los cultivares de GC2, se observó en los cultivares de GC 3 (Figura 4.2).

Si se comparan los % P de K. Proteo, K. Rayo y B. Pleno con los valores obtenidos en la campaña 2018/219 de la Red de Ensayos Territoriales (RET) (INASE, https://www.argentina.gob.ar/inase/red-de-ensayos-comparativos-de-variedades-de-trigo/campana-20182019), considerando particularmente los ensayos con alta tecnología realizados en Balcarce, los valores alcanzados fueron:16,05%; 14,76% y 13,63% respectivamente), por lo que se puede observar un comportamiento relativo similar, es decir

mayor %P en los cultivares de GC1 con respecto al del GC2. Como era esperable en términos absolutos, los valores reportados en dicho ensayo difieren con respecto a los obtenidos en esta investigación, puesto de la cantidad de proteínas, como se mencionó anteriormente, depende no sólo del genotipo, sino también de las condiciones ambientales, y de la interacción entre ambos factores (Zorb et al., 2018).

En estrecha relación con la cantidad de proteínas en grano se analizó el porcentaje de gluten, y se observaron las diferencias entre las variedades (Cuadro 4.5), mostrando las variedades del GC1 superioridad con respecto a las otras. Solo B.75 Aniv. (GC3) mostró valores de %GH similares a K. Proteo y K. Rayo. Por su parte B. Pleno, N. Bag. 9 y K. León exhibieron valores de %GH inferiores a 27, que es el valor aproximado de los trigos considerados aptos para panificación directa (Seghezzo y Molfese, 2002).

Cuadro 4.5: Porcentaje de Gluten Húmedo (%GH) de las variedades analizadas. Media de los tres tratamientos de fertilización analizados (T, N, NS). Entre paréntesis figura el grupo de calidad según INASE.

| **Variedad** | **%GH** | |
|---|---|---|
| K. Proteo (GC1) | 31,53 | A |
| K. Rayo (GC1) | 29,36 | B |
| B. Pleno (GC2) | 26,95 | Cd |
| N. Bag.9 (GC2) | 25,53 | d |
| B. 75 Aniversario (GC3) | 28,45 | Bc |
| K. León (GC3) | 25,63 | d |

Letras diferentes indican diferencias significativas.

Las variedades con mayor porcentaje de gluten fueron también las de mayor porcentaje de proteínas (Figura 4.2); la estrecha relación entre ambos parámetros, puede observarse en la Figura 4.3.

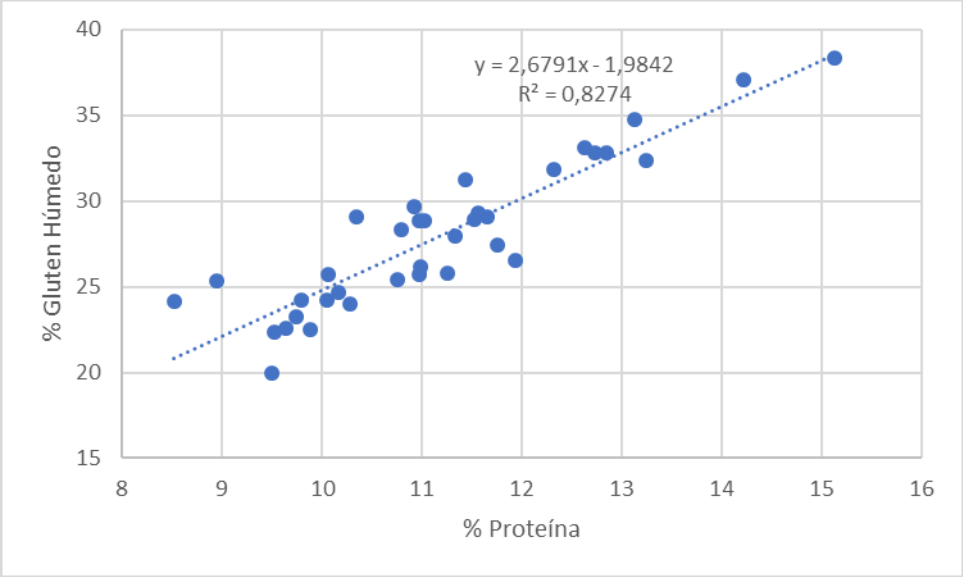



Figura 4.3: Relación entre porcentaje de gluten húmedo y porcentaje de proteínas de todas las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS) y en los dos años de experimentos (Año 1 y Año 2).

Con respecto a las diferencias de % GH entre tratamientos y entre años, se puede observar una superioridad del año 1 con respecto al año 2 (Cuadro 4.6), incluso en el tratamiento T, a diferencia del %P que no mostró diferencias entre los dos años en el tratamiento sin fertilización (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.6: Porcentaje de gluten húmedo en los tres tratamientos: Testigo (T), Nitrógeno (N), Nitrógeno y Azufre (NS), en los dos años analizados (Año 1 y Año 2).

| **Año** | **T** | | **N** | | **NS** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 27,00 | B | 32,88 | A | 31,74 | a |
| 2 | 23,04 | C | 25,82 | B | 26,97 | b |

Letras diferentes indican diferencias significativas.

Cabe destacar que las variedades que según esta investigación obtuvieron un % GH superior a 28%, adecuado para panificación industrial (Cuadro 4.5), no presentaron diferencias en rendimiento en grano, según lo analizado en el capítulo anterior (ver capítulo anterior Cuadro 3.1-Cap. N°3).

Similar situación ocurrió con el efecto de los tratamientos N y NS sobre %GH, los cuales mostraron mayores valores en el año 1 con respecto al año 2, aunque no se observaron diferencias en este sentido en el rendimiento en grano (Figura 3.3- Cap. N°3).

### 4.3.2 Parámetros reológicos de la masa y fuerza del gluten

Cuadro 4.7: Porcentaje de explicación (% Exp.) y nivel de significancia (Sig.) de las variables Fuerza de la masa (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y volumen de sedimentación (SDSS) en función de las fuentes de variación: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Bloque (B), Año (A) y sus interacciones G x F, G x B, G x A, F x A y G x F x A.

| F. V. | W | | P | | L | | SDSS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sig. | % Exp. | Sig. | % Exp. | Sig. | % Exp. | Sig. | % Exp. |
| **Variedad (V)** | *** | 72,25 | *** | 59,87 | *** | 42,71 | *** | 45,50 |
| **Fert (F)** | *** | 12,14 | * | 2,88 | *** | 22,93 | ** | 2,81 |
| **Bloque (B)** | NS | 0,14 | NS | 2,44 | NS | 0,55 | NS | 0,29 |
| **Año (A)** | ** | 1,04 | NS | 0,01 | NS | 0,75 | *** | 28,41 |
| **V x F** | ** | 3,48 | * | 10,60 | * | 6,55 | NS | 1,44 |
| **V x B** | NS | 1,63 | NS | 4,41 | NS | 3,07 | NS | 2,59 |
| **V x A** | ** | 2,72 | NS | 3,51 | ** | 7,22 | *** | 10,40 |
| **F x B** | NS | 0,26 | NS | 1,46 | NS | 0,48 | NS | 0,55 |
| **F x A** | NS | 0,69 | NS | 0,19 | ** | 3,56 | NS | 0,38 |
| **V x F x A** | ** | 4,11 | NS | 1,43 | ** | 8,40 | NS | 2,60 |

Los asteriscos *, ** y *** indican el nivel de significancia al 0,1, 0,05 y 0,01 y NS significa no significativo.

Los cuatro parámetros analizados (W, P, L y SDSS) presentaron diferencias significativas entre las variedades y entre tratamientos de fertilización (Cuadro 4.7). A su vez la fuerza de la masa (W) mostró diferencias también entre los años de ensayo, y en las interacciones V x F, V x A y V x F x A, siendo las diferencias en dicho parámetro

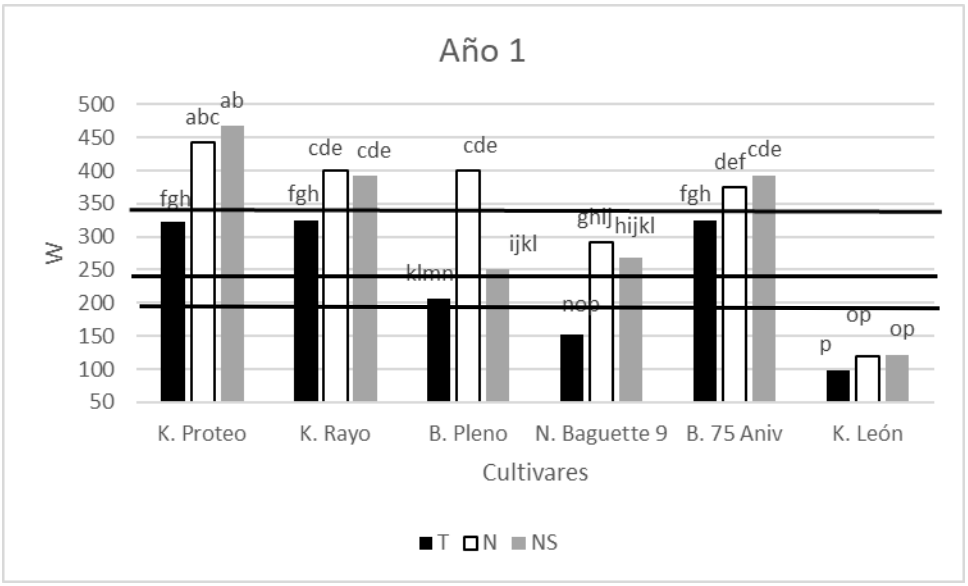
principalmente explicadas por las diferencias entre variedades seguido por las diferencias entre los tratamientos de fertilización.

Por su parte las diferencias en la tenacidad (P) estuvieron explicadas principalmente por las diferencias entre las variedades y por la interacción V x F; además se presentaron diferencias determinadas en menor proporción por los tratamientos de fertilización. Las diferencias en extensibilidad (L) estuvieron dadas principalmente por las diferencias entre las variedades y entre los tratamientos de fertilización, además de presentarse diferencias en las interacciones V x F, V x A, F x A y V x F x A.

En cuanto a la fuerza de gluten, expresada como volumen de sedimentación (SDSS), las principales diferencias están explicadas por las diferencias entre las variedades y por las diferencias en la interacción V x A; además se observan diferencias entre los dos años de ensayos.

Atendiendo al análisis de la varianza realizado sobre los parámetros de calidad reológica, se puede observar en la Figura 4.4, los valores de fuerza de la masa o W promedio de las variedades en los distintos tratamientos de fertilización y en los dos años de experimentos.

a-




b-

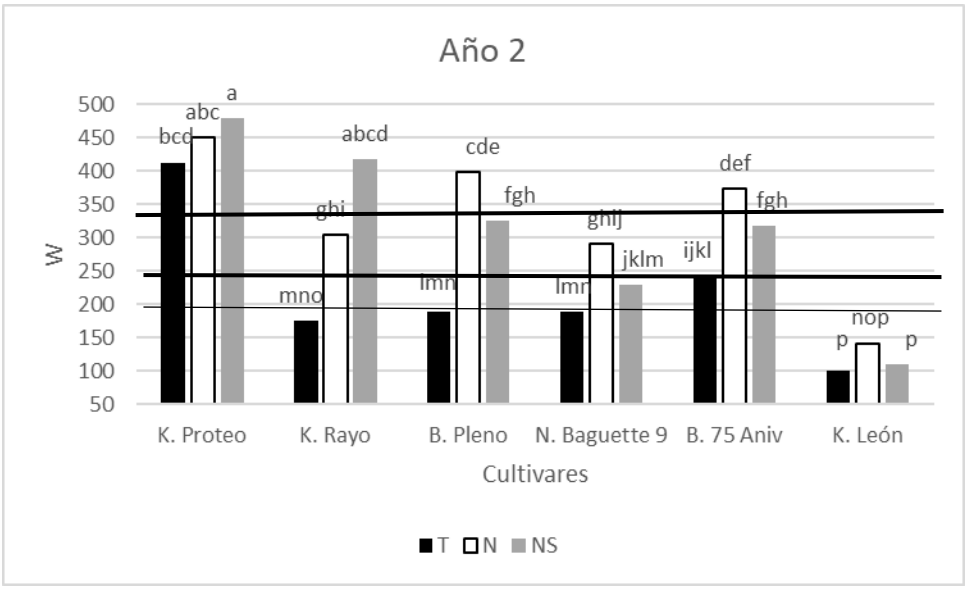



Figura 4.4: Valor promedio de fuerza de la masa (W) para las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N, NS) y en los dos años de ensayos: a: Año 1 y b: Año 2. Las líneas negras corresponden a los valores de W esperables como base para cada grupo de calidad, siendo W=180 la base para GC3, W=240 para GC2 y W=340 para GC1) (Cuniberti, 2004). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05).

En el año 1, como se puede observar en la figura 4.4a, ninguna variedad en el tratamiento sin el agregado de fertilizantes superó el valor de W considerado como probable para incluirse en el GC 1 (Cuniberti, 2004). Por otro lado, K. Rayo, K, Proteo y B.

75 Aniversario en sus tratamientos fertilizados con N y con NS sí lograron superar el valor indicado (W=340), al igual que B. Pleno en su tratamiento fertilizado con N. Además K. Rayo, K. Proteo y B. 75 Aniversario en sus tratamientos testigos obtuvieron valores de fuerza de la masa correspondientes a los esperables para GC2 (W entre 240-340); al igual que B. Pleno en su tratamiento NS y Nidera Baguette 9 en ambos tratamientos fertilizados, N y NS, quedando así en evidencia el efecto de la disponibilidad de N sobre la fuerza panadera.

Asimismo, en el primer año K. Proteo mostró una gran respuesta a la fertilización con N y NS en fuerza de la masa, y K. Rayo y B. 75 Aniversario, aun perteneciendo a distinto grupo de calidad, tuvieron un comportamiento similar, que podría deberse a la similar composición en subunidades favorables de gluteninas de alto peso molecular y gliadinas, como se muestra en el capítulo N°5 de esta tesis. Esto contribuye a la teoría que la calidad de las masas depende tanto de la cantidad de proteínas, como de la calidad de las mismas (Southan y MacRitchie, 1999). Cabe destacar también que las tres variedades mencionadas fueron las que obtuvieron mayores valores de %GH. De esta manera, estos resultados muestran que la masa mostrará su fuerza potencial, cuanto mayor sea el porcentaje de proteína, y mejor sean las subunidades proteicas participantes, responsables de otorgar elasticidad y tenacidad, que se agregaran para formar el gluten.

Por su parte B. Pleno en el tratamiento testigo obtuvo valores dentro del rango de esperables para GC 3 (W entre 180-240), en tanto que el cultivar K. León no logró superar en ninguno de sus tratamientos el valor base de fuerza de masa esperable para el mencionado grupo, manteniendo así su baja calidad panadera.

Por otro lado, reafirmando el efecto ambiental sobre la calidad final de las harinas, en el año 2 (Figura 4.4b), las variedades que alcanzaron valores de W correspondientes a los esperables para GC1 fueron: K. Proteo en sus tres tratamientos, incluyendo al tratamiento testigo, lo que indicaría que dicho cultivar, aún sin fertilización cuando crece en un año con condiciones edáficas más favorables (Cuadro 2.2- Capítulo N°2), logra expresar su potencial. También superaron el valor de 340 de W, los cultivares K. Rayo en el tratamiento NS, y B. Pleno y B. 75 Aniversario en el tratamiento N. Por su parte K. Rayo y N. Baguette 9 en sus tratamientos fertilizados con N y B. 75 Aniversario en el tratamiento T, obtuvieron valores de W entre 240 y 340, mientras que B. Pleno y N. Baguette 9 en los tratamientos testigo alcanzaron valores de W entre 180 y 240, y K. Rayo en el tratamiento T y K. León en todos sus tratamientos, al igual que en el año 1, presentaron valores de W inferiores a 180, siendo de esta forma su calidad consistentemente pobre en los dos años, independientemente de las condiciones ambientales.

Con respecto a los otros parámetros alveográficos que sirven para caracterizar la calidad panadera de las masas, como se mencionó anteriormente, además de la fuerza panadera resulta relevante conocer la tenacidad y la extensibilidad. La tenacidad de las dos variedades del GC1, K. Proteo y K. Rayo, en sus tratamientos sin el agregado de fertilizante, fue superior significativamente a los otros cultivares y tratamientos (Cuadro 4.8). El resto de los cultivares no difirieron entre tratamientos, y a su vez K. León presentó valores de tenacidad muy inferiores al resto de las variedades analizadas.

Cuadro 4.8. Valor promedio de tenacidad de la masa (P) para las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N, NS). Entre paréntesis figura el grupo de calidad según INASE.

| **Variedad** | **T** | | **N** | | **NS** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| K. Proteo (GC1) | 193,00 | A | 111,00 | cde | 142,42 | bc |
| K. Rayo (GC1) | 153,50 | b | 133,42 | bcde | 140,83 | bcd |
| B. Pleno (GC2) | 117,67 | cde | 125,25 | bcde | 140,00 | bcd |
| N. Baguette 9 (GC2) | 109,50 | de | 114,75 | cde | 106,25 | e |
| B. 75 Aniv (GC3) | 124,67 | bcde | 103,83 | e | 122,67 | bcde |
| K. León (GC3) | 49,25 | f | 55,33 | f | 46,50 | f |

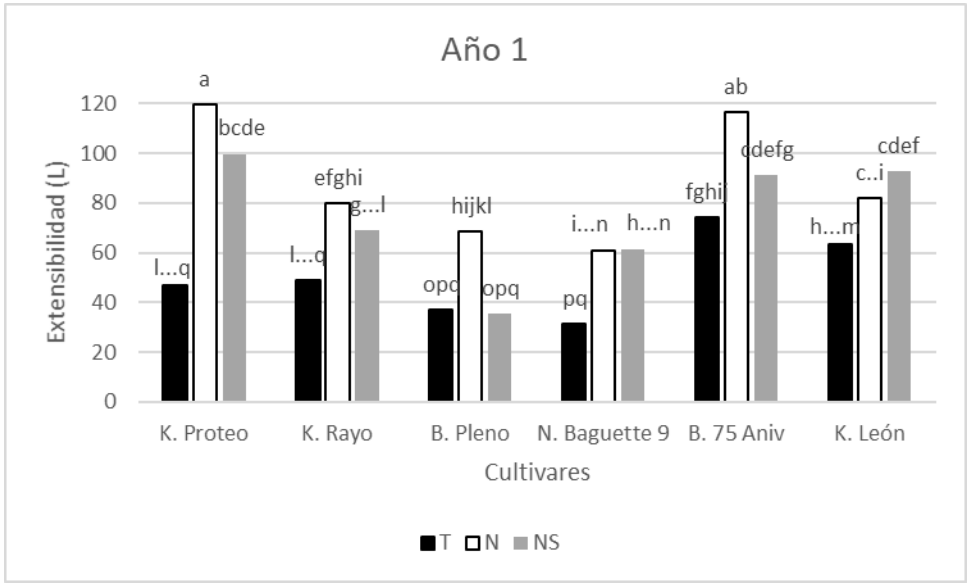
Letras diferentes indican diferencias significativas.

Con respecto a la extensibilidad de la masa (L), el otro parámetro que junto a la tenacidad (P) le da la forma a la curva de fuerza de masa del alveograma, se observaron grandes cambios entre cultivares, tratamientos y años (Figura 4.5a, b). Se muestra que la variedad K. Proteo en el año 2 no presentó diferencias entre los tratamientos, similar a lo observado en la fuerza de la masa, mientras que en el año 1 ambos tratamientos fertilizados (N y NS) alcanzaron mayores valores de L que el tratamiento testigo, reforzando la teoría que una mayor disponibilidad de N mejora la extensibilidad de las masas (Lerner et al., 2013). Similar comportamiento se pudo observar en el cultivar N. Baguette 9 (Figura 4.5a y b).

La superioridad de L en los tratamientos fertilizados se reiteró en el resto de las variedades. En contraposición con lo observado anteriormente en los otros parámetros reológicos, K. León presentó valores de extensibilidad apenas inferiores a los del cultivar

K. Proteo, por lo que podemos inferir que el valor de W estuvo más influenciado por la tenacidad de la masa que por la extensibilidad.

a-




b-

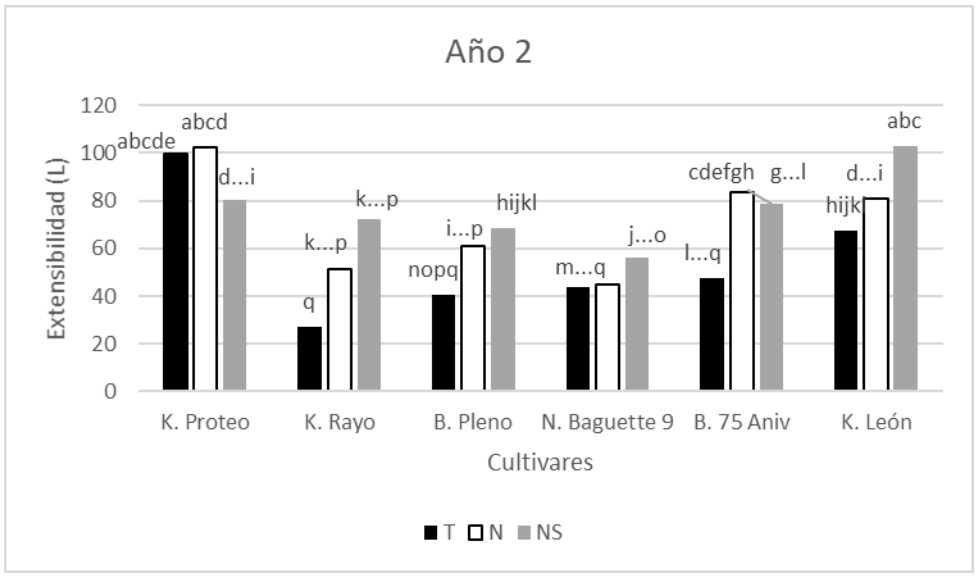



Figura 4.5: Valor promedio de extensibilidad de la masa (L) para las variedades analizadas, en los tres tratamientos de fertilización (T, N y NS), en los dos años de experimentos (Año 1 y Año2). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05).

Cabe mencionar también que no se encontraron diferencias significativas para la relación P/L para ninguna de las fuentes de variación analizadas.

Como complemento al análisis de calidad exacto desarrollado en la presente sección, se midió también la fuerza del gluten a través del volumen de sedimentación en SDSS (Dick y Quick, 1983), el cual se clasifica dentro los métodos orientativos de calidad de harinas de trigo, utilizado en investigación y en los programas de mejoramiento por requerir solo una pequeña cantidad de harina integral (Guzmán et al., 2016).

Se observó que la fuerza del gluten fue alrededor de un 15% superior en el tratamiento fertilizado con NS, con respecto al tratamiento testigo (Figura 4.6). Estos resultados indicarían que el tratamiento de fertilización complementario con NS logró aumentar la fuerza del gluten de las variedades analizadas, obteniendo diferencias significativas tanto con el tratamiento T como con el tratamiento que recibió la fertilización tradicional con N, distinto a la observado en los parámetros reológicos, en los que si se observó el efecto de la interacción V x F (Cuadro 4.7).

A su vez las variedades presentaron diferencias en fuerza de gluten entre los años, obteniendo los cultivares del GC1, junto con B. Pleno y B. 75 Aniversario, mejores valores de fuerza del gluten en el año 1 con respecto al año 2, en tanto que N. Baguette 9 y K. León no difirieron entre años en fuerza del gluten (Figura 4.7).

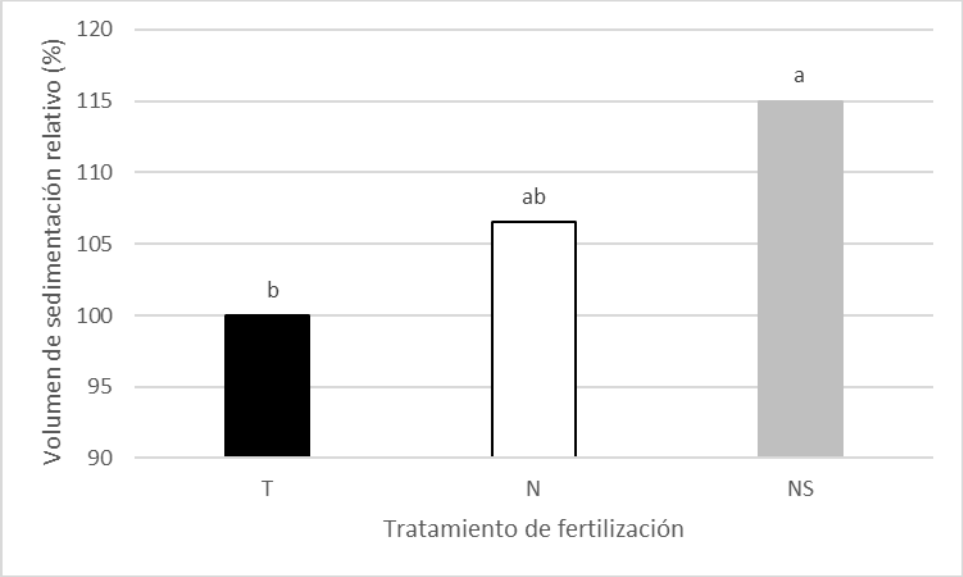



Figura 4.6. Volumen de sedimentación relativo al tratamiento Testigo, en los distintos tratamientos de fertilización (T: Testigo, N: Nitrógeno y NS: Nitrógeno y Azufre). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05).

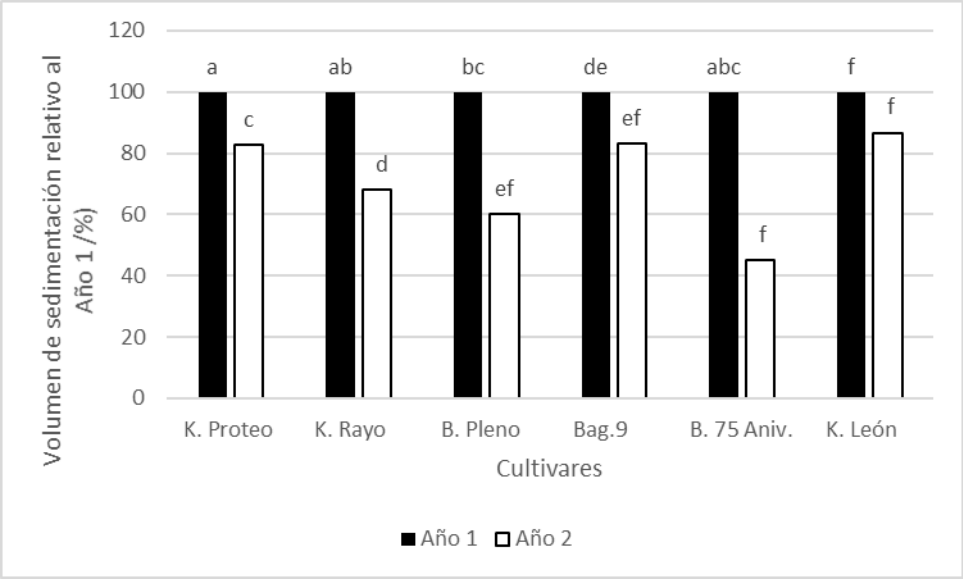



Figura 4.7: Volumen de sedimentación relativo al año 1, de las distintas variedades analizadas en los dos años de experimentos (Año 1 y Año 2). Letras diferentes indican diferencias significativas (P= 0.05).

Como se observó en los valores de la fuerza del gluten, a diferencia de los parámetros reológicos analizados, se presentaron mayoritariamente valores superiores en el

año 1, lo que reafirma la idea que el test de sedimentación serviría para estimar tanto calidad de proteínas que forman el gluten como la cantidad de proteínas.

## 4.4 Conclusión

Concluyendo, se observó que, aunque el factor año tuvo un importante efecto sobre los parámetros de calidad medidos, las variedades correspondientes al GC1 tuvieron un porcentaje de proteínas superior a 11% en los dos años. Adicionalmente se observó un efecto diferencial de la fertilización complementaria con N y NS sobre parámetros de calidad de las harinas como W, P, L y fuerza de gluten, en los distintos genotipos analizados.

Teniendo en cuenta los factores que determinan la calidad final de las harinas, mencionados en la introducción del presente capítulo, resulta importante conocer también como las prácticas de fertilización con N y complementarias con N y S afectan la acumulación y cantidad de las fracciones proteicas que conforman el gluten, aspecto que se abordará en el capítulo siguiente.

# CAPÍTULO N°5. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE LA ACUMULACIÓN DE GLIADINAS Y GLUTENINAS DE VARIEDADES ARGENTINAS DE TRIGO PAN DE DISTINTOS GRUPOS DE CALIDAD

## 5.1 Introducción

La síntesis de las distintas sustancias de reserva del grano de trigo (almidón, lípidos y proteínas) no ocurre simultáneamente, por lo que la composición química de los granos también varía durante la etapa de llenado (Sakr et al., 2021).

De los componentes mencionados, las proteínas poliméricas o gluteninas (GLU) junto con las proteínas monoméricas o gliadinas (GLI) son las que contribuyen con la viscosidad y elasticidad del gluten, respectivamente (Koga et al., 2020), y posteriormente con la calidad de las harinas, por lo que son muy relevantes para la industrialización (Peña, 2002).

Las GLI se depositan primero durante el llenado de los granos (10 o 15 días después de antesis) en tanto que las GLU se depositan más tarde (15 o 20 días después de antesis), por lo que la relación entre ambos grupos proteicos también varía durante la etapa (Chope et al., 2014., Rondanini et al., 2018), y está condicionada además por situaciones de estrés (altas temperaturas, estrés hídrico, etc.) lo que provoca finalmente efectos sobre la calidad de la masa (DuPont y Altebach, 2003; Dai et al., 2014). Asimismo, las distintas subunidades dentro de una misma fracción proteica también se van depositando en distintos momentos. En este sentido, Naeem et al. (2012) encontraron que genotipos con las subunidades 5+10 (*Glu-D1*) comenzaron a acumularse antes durante el llenado de los

granos que los genotipos que tenían en el mismo locus las subunidades 2+12, probablemente debido al residuo extra de cisteína presentes en el primer caso.

La relación entre las condiciones ambientales y la calidad final del trigo es compleja, y se ha estudiado a través del efecto del ambiente sobre las proteínas de reserva (DuPont et al., 2006; Zhu y Khan, 2002; Toth et al., 2020). La disponibilidad de los distintos nutrientes incide sobre la calidad de los granos como así también sobre la acumulación de las proteínas (Altenbach et al., 2016, Xue et al 2016).

Particularmente, en cuanto a disponibilidad de N, varios estudios han planteado como objetivo ver el efecto de la fertilización aplicada bajo distintos regímenes y dosis, sobre la composición de los granos (Toth et al., 2019; Rossman et al., 2020). En este sentido, Liu et al. (2012), encontraron que aumentos en la disponibilidad de N aplicado como fertilizante durante el ciclo del cultivo mejoraron diferencialmente la calidad de los granos y afectaron la deposición de las proteínas según los genotipos utilizados.

Asimismo, Chope et al. (2014) encontraron que aplicaciones de N después de antesis generaron un aumento en la fracción de GLI en cinco cultivares de trigo pan de origen británico, mientras que observaron un decrecimiento de GLU de alto (GAPM) y bajo peso molecular (GBPM), dependiendo del cultivar.

Por su parte, Zhen et al. (2020) reportaron un incremento de las tres fracciones proteicas que componen el gluten (GAPM, GBPM y GLI) en un cultivar de trigo pan de origen chino, caracterizado por tener alto rendimiento y buena calidad, en un tratamiento fertilizado con 240 kg $ha^{-1}$ de N (urea), con respecto a un tratamiento testigo fertilizado con 180 kg $ha^{-1}$.

Liu et al. (2021) estudiaron el efecto de la combinación de la disponibilidad hídrica y distintas dosis de fertilizante nitrogenado sobre la acumulación proteica y la calidad de las masas, y encontraron que, en condiciones de déficit hídrico, una elevada fertilización nitrogenada (240Kg N $ha^{-1}$) favoreció la acumulación de los macropolímeros de gluteninas y la consiguiente calidad reológica de las masas.

Adicionalmente, Ferrari et al. (2021) reportaron en un genotipo comercial de trigo pan aumentos significativos de las GAPM con dosis elevadas de fertilizante N aplicado al suelo, mientras que no observaron cambios con urea aplicada de forma foliar, en tanto que encontraron respuestas opuestas para las GBPM, es decir no reportaron cambios con la aplicación de fertilizante nitrogenado aplicado al suelo, en tanto que sí aumentaron con dosis crecientes de N aplicado de forma foliar. En la fracción de GLI solo observaron incrementos con las dosis más altas de fertilizante foliar.

Con respecto al azufre, son menos los trabajos que han abordado su efecto sobre la calidad final de las masas, comparado con los que estudiaron los efectos del N. Asimismo, tampoco ha sido tan explorada la incidencia del S y N, como complemento a la fertilización temprana con N, sobre la composición proteica del gluten. En relación a lo mencionado, sí se considera que en general bajas disponibilidades del nutriente tienden a aumentar la cantidad de las proteínas pobres en S y por lo tanto elevan la relación GAPM/GBPM (Southan y McRitchie, 1999).

Además, se han observado efectos diferenciales del S sobre la síntesis y acumulación de GAPM y GBPM. Según Zhao et al. (1999), el resultado neto de la deficiencia de S resultó

en la disminución de la cantidad de proteínas poliméricas presentes en la harina, debido a que las GBPM son el principal componente del polímero de gluteninas.

Asimismo, en los trabajos citados en esta introducción se han mostrado resultados de ensayos realizados en una variedad, y los que utilizaron más de un genotipo en general no especificaron parámetros de la calidad industrial de los mismos ni las diferencias en la composición proteica del gluten, por lo que resulta relevante investigar en condiciones de campo el efecto de la fertilización foliar complementaria con N y S en genotipos clasificados en diferente calidad panadera potencial y distinta composición de GAPM aún dentro de la misma categoría.

Por todo lo mencionado anteriormente, en el presente capítulo se pretende abordar el **objetivo específico N°3:** Estudiar cómo prácticas de fertilización tradicional (N) y complementaria (con N y S) afectan la acumulación de las fracciones proteicas que componen el gluten (Gluteninas de alto-GAPM y de bajo peso molecular- GBPM y Gliadinas- GLI) de variedades argentinas de trigo pan de distintos grupos de calidad.

## 5.2 Materiales y métodos

Los **cultivares** utilizados y el desarrollo de los **experimentos a campo** son en general los descriptos en el capítulo N°3 de esta tesis, en tanto que la metodología de cosecha de espigas durante llenado de granos y posterior análisis de las fracciones proteicas fue la siguiente**:**

**5.2.1 Cosecha durante llenado de granos**: En floración del cultivo (Zadoks 6.5) se marcaron 50 espigas de igual estado de desarrollo dentro de cada subparcela. A los 14, 21, 28 y 35 días después de antesis (DDA) se cosecharon 10 espigas al azar de cada subparcela, se las secó en estufa a 60°C, se las pesó y se trillaron manualmente. Luego, se molieron los granos con molinillo eléctrico.

**5.2.2 Extracción de las fracciones proteicas y electroforesis en geles de poliacrilamida:** Las distintas fracciones proteicas de cada muestra correspondiente a cada cosecha durante el llenado de granos de cada variedad y cada tratamiento de fertilización en los dos años de ensayo, se extrajeron secuencialmente partiendo de 20 mg de harina siguiendo el método de Singh et al. (1991). Las gliadinas se extrajeron primero con 50% v/v de propanol, se evaporó el sobrenadante en estufa a 60 ºC y luego se re-suspendieron las gliadinas con etanol 70 % v/v.

A partir de la fracción insoluble en alcohol se extrajeron las gluteninas de la muestra original y después de lavados con propanol al 50 % v/v se redujeron los enlaces disulfuro con ditiotreitol (DTT) y se alquilaron con 1,4% 4-vinilpiridina para mejorar la resolución. Ambas fracciones finalmente se acondicionaron para la corrida con la solución adecuada (la cual contenía azul de bromofenol como colorante).

Posteriormente se procedió a la siembra de 20 microlitros las fracciones proteicas (gliadinas y gluteninas) en geles de poliacrilamida con una concentración del polímero (acrilamida/ bisacrilamida) de 13,5 % que proporciona adecuada separación de los grupos proteicos (Lerner et al., 2009). La corrida electroforética se realizó a corriente continua de 40 mA por gel. Finalizado este proceso se fijaron las proteínas con ácido tricloroacético y

se colorearon con Coomassie Blue para su visualización. Se identificaron las subunidades de GAPM y el tipo de gliadinas siguiendo los patrones utilizados en la bibliografía (Payne, 1987; Rogers et al., 1991; Belderok et al., 2000; Gianibelli et al., 2002; Branlard et al., 2003; Alvarez y Guzmán, 2019; Gao et al., 2020)

5.2.3 **Cuantificación de las fracciones proteicas:** Se cuantificaron los distintos grupos proteicos de las muestras provenientes de cada cosecha durante el llenado, de los dos años para todos los cultivares y tratamientos. Todos los geles obtenidos se tiñeron con 250 ml de solución de tinción conformada por Coomassie Brilliant Blue G-250 disuelto en etanol 96% y ácido tricloroacético (TCA) 12%, durante 24 horas. Luego se colocaron en 250 ml de TCA 12% otras 24 horas para aclarar el fondo del gel y finalmente se lavaron con 250 ml de agua durante 24 horas para mejorar la resolución. Todo el proceso se realizó a temperatura ambiente y con agitación lenta continua.

Luego de todo el proceso de tinción, los geles se escanearon y se utilizó un software (TotalLab v1.0) para cuantificar la intensidad de pixeles de cada subunidad de los diferentes grupos proteicos (GAPM, GBPM y GLI). Cada uno de los geles tuvo una calle con el cultivar Chinese Spring, utilizado como referencia.

**5.2.4 Análisis estadístico:** La cantidad de cada fracción proteica acumulada en los distintos momentos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 DDA) fue estimada como el porcentaje de cada fracción (GAPM, GBPM, GLI) respecto al total de proteínas del gluten, estimada también a partir de los geles de poliacrilamida. Los datos fueron transformados a logaritmo natural y analizados como medidas repetidas mediante ANCOVA, con el tiempo como covariable. El paquete estadístico utilizado fue R.

## 5.3 Resultados y Discusión

### 5.3.1 Identificación de la composición proteica de GAPM, GBPM y Gliadinas

Los genotipos utilizados mostraron la composición proteica que se observa en el Cuadro 5.1, y en las figuras 5.1 y 5.2..

Cuadro 5.1: Composición proteica de subunidades de GAPM, tipo de GLI y puntaje de calidad obtenido en el Score *Glu-1* (Payne et al., 1987) en los genotipos analizados. Entre paréntesis figura el grupo de calidad de cada genotipo.

| **Cultivar** | **GAPM** | | | **GLI (ª)** | **Score *Glu-1*** |
|---|---|---|---|---|---|
| | *Glu-A1* | *Glu-B1* | *Glu-D1* | | |
| K. Proteo (GC1) | 1 | 7+9 | 5+10 | CSS | 9 |
| K. Rayo (GC1) | 2* | 7*+8 | 5+10 | CNN | 7 |
| B. Pleno (GC2) | 2* | 7+8 | 5+10 | CSS | 10 |
| N. Baguette 9 (GC2) | 2* | 7+8 | 2+12 | CSS | 8 |
| B. 75 Aniv. (GC3) | 1 | 7+8 | 5+10 | CNN | 10 |
| K. León (GC3) | N | 7+9 | 2+12 | CNN | 5 |

(a) CSS: patrón de gliadinas similares al cultivar Chinese Spring; CNN: patrón de gliadinas similar al cultivar Cheyenne. Los números en cada locus, acompañados por asteriscos en algunos casos, indican el nombre da cada subunidad. N significa que el cultivar no presenta subunidad en dicho locus.

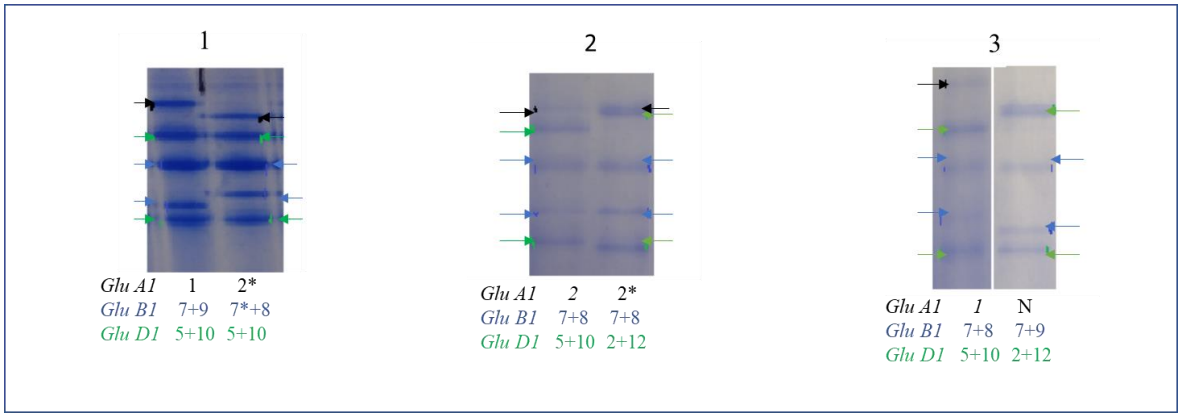



Figura 5.1: perfil proteico de gluteninas de alto peso molecular de las variedades: 1) K. Proteo y K. Rayo; 2) B. Pleno y N. Baguette 9; 3) B. 75 Aniversario y K. León.

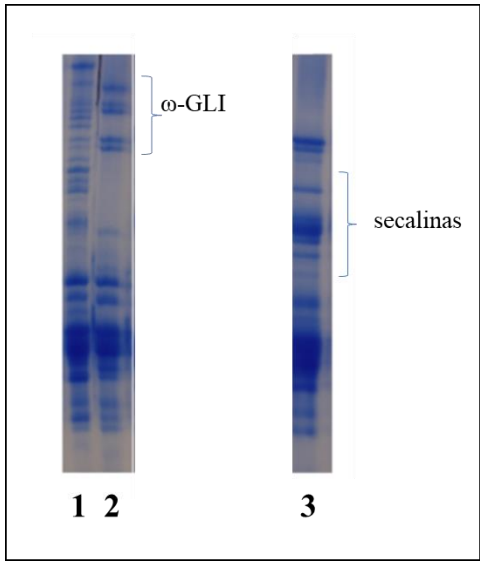



Figura 5.2: perfil proteico de gliadinas similar al cultivar Cheyenne o CNN (1) y similar al cultivar Chinese spring o CSS, con presencia de ω-GLI (2) y similar a CSS con pérdida de ω-GLI y presencia de secalinas (3).

Cabe aclarar que, aunque el Score *Glu-1* (Payne, 1987) puede no reflejar fehacientemente la calidad de los genotipos, puesto que no contempla las gliadinas y las gluteninas de bajo peso molecular, se lo suele utilizar como una medida de calidad

potencial de las harinas, es decir un mejor puntaje en dicho Score indicaría mejor calidad de las harinas (Tabasum et al., 2011; Singh y Gupta., 2021) (Cuadro 5.1).

Es de destacar que, aunque se analizaron cultivares de los tres grupos de calidad determinados por INASE, se pueden observar diferencias en los valores de Score *Glu-1* entre variedades pertenecientes al mismo GC. Asimismo, cultivares de distinto GC obtuvieron el mismo puntaje en dicho Score, por ejemplo, B. Pleno y B. 75 Aniversario (Cuadro 5.1). De los cultivares pertenecientes al GC1, K. Proteo tuvo un puntaje de Score *Glu-1* de 9, mientras que K. Rayo obtuvo un 7, puesto que a pesar de tener una buena composición de GAPM, presentó la introgresión con genes de centeno (*Secale cereale* L.), lo que supone un detrimento en la calidad de las masas.

Con respecto a las GBPM, todavía no está esclarecido el efecto de las distintas subunidades sobre la calidad de las harinas, aunque existen investigaciones al respecto (Liu et al., 2010; Figueroa et al., 2011), pero varios investigadores concuerdan en que las GAPM son las que más inciden sobre la calidad final de las harinas (Payne, 1987; Carrillo et al., 1990, Gao et al., 2016).

### 5.3.2 Acumulación de fracciones proteicas durante el llenado de granos

Para estudiar la acumulación de las distintas fracciones proteicas, se calculó el porcentaje de GAPM, GBPM y GLI del total de proteínas que conforman el gluten, para cada variedad (V), tratamiento de fertilización (F) y en los distintos tiempos de muestro durante el llenado o días después de antesis (DDA): 14, 21, 28 y 35 en los dos años (A) de experimentos (Año 1 y Año 2).

Como se puede observar en el Cuadro 5.2, las GAPM presentaron diferencias entre los tratamientos de fertilización (F), los momentos del llenado o días después de antesis (DDA), como así también en la interacción V x A, DDA x A, V x F x A, V x A x DDA y V x F x A x DDA.

Por su parte, las cantidades de GBPM y GLI difirieron significativamente entre los cultivares y entre los distintos momentos de muestreo durante el llenado (14, 21, 28 y 35 DDA), al igual que la interacción V x DDA, es decir que a lo largo de la etapa de llenado de los granos la deposición de dichos grupos proteicos que forman el gluten resultó afectada de diferente forma en los genotipos analizados. Además, la interacción V x A significativa indicaría que los cultivares respondieron de diferente forma en la cantidad de las fracciones proteicas en los dos años. Asimismo, fueron significativas las interacciones DDA x A y V x A x DDA.

Las GBPM y GLI mostraron diferencias entre los años analizados, no así las GAPM que resultaron más estables entre años. La similar respuesta observada entre las GBPM y las GLI sugiere que además del estrecho ligamiento genético que existe entre los genes que codifican para estas fracciones proteicas (Metakovsky 1990), los mismos tendrían comportamientos funcionales equivalentes.

Cuadro 5.2: Nivel de significancia de las fracciones proteicas GAPM, GBPM y GLI de las distintas fuentes de variación analizadas: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Año (A), tiempos de muestreo o días después de antesis (DDA), y las interacciones V x F, V x A, F x A, V x DDA, F x DDA, V x F x DDA, V x F x A, V x A x DDA, F x A x DDA, V x F x A x DDA.

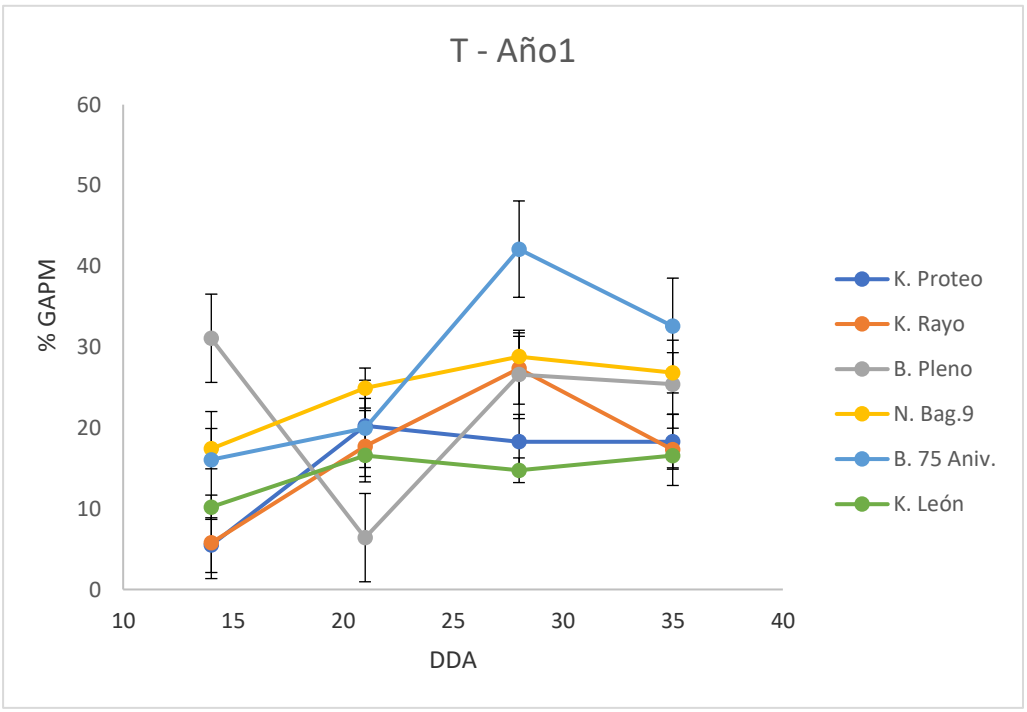
| F.V. | GAPM | GBPM | GLI |
|---|---|---|---|
| | p value | p value | p value |
| **Variedad (V)** | 0,0755 | <0,0001 | <0,0001 |
| **Fert (F)** | 0,0213 | 0,5129 | 0,2088 |
| **Año (A)** | 0,1596 | <0,0001 | <0,0001 |
| **Días después de antesis (DDA)** | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| **V x F** | 0,1801 | 0,2714 | 0,6841 |
| **V x A** | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| **F x A** | 0,0772 | 0,3419 | 0,2947 |
| **V x DDA** | 0,092 | <0,0001 | <0,0001 |
| **F x DDA** | 0,0756 | 0,7653 | 0,6325 |
| **A x DDA** | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| **V x F x DDA** | 0,566 | 0,3372 | 0,7731 |
| **V x F x A** | 0,0405 | 0,3232 | 0,1041 |
| **V x A x DDA** | <0,0001 | <0,0001 | 0,0006 |
| **F x A x DDA** | 0,3093 | 0,2786 | 0,5863 |
| **V x F x A x DDA** | 0,0351 | 0,2177 | 0,6885 |

### 5.3.3 Acumulación de la fracción de GAPM durante el llenado de granos

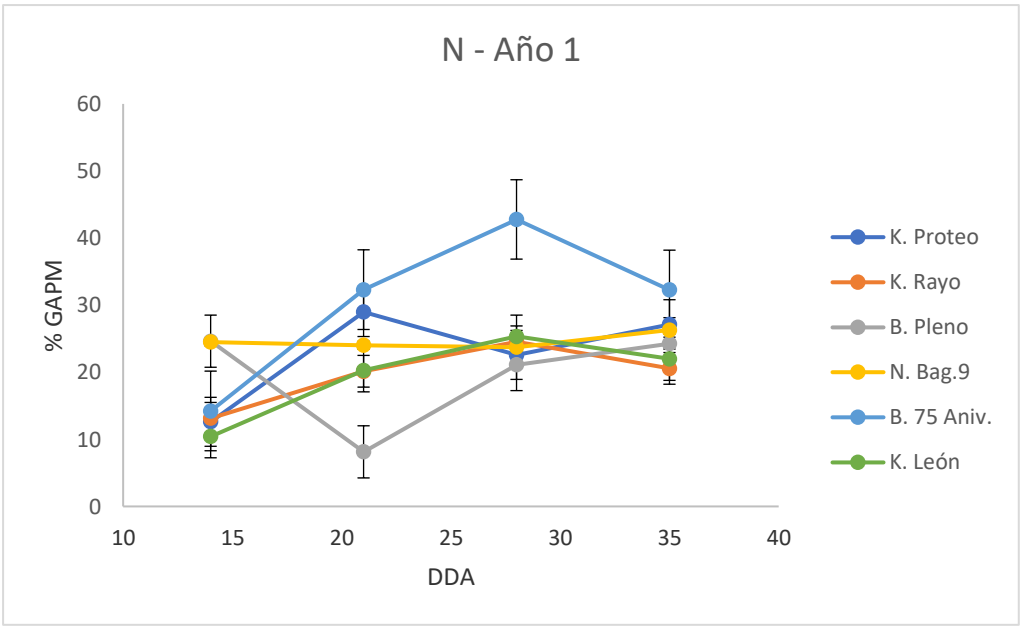
Las GAPM representaron entre el 10,5% y el 37,9% del total de proteínas del gluten, dependiendo del cultivar, del momento de llenado, de la práctica de fertilización aplicada (T, N, NS) y del año de ensayo.

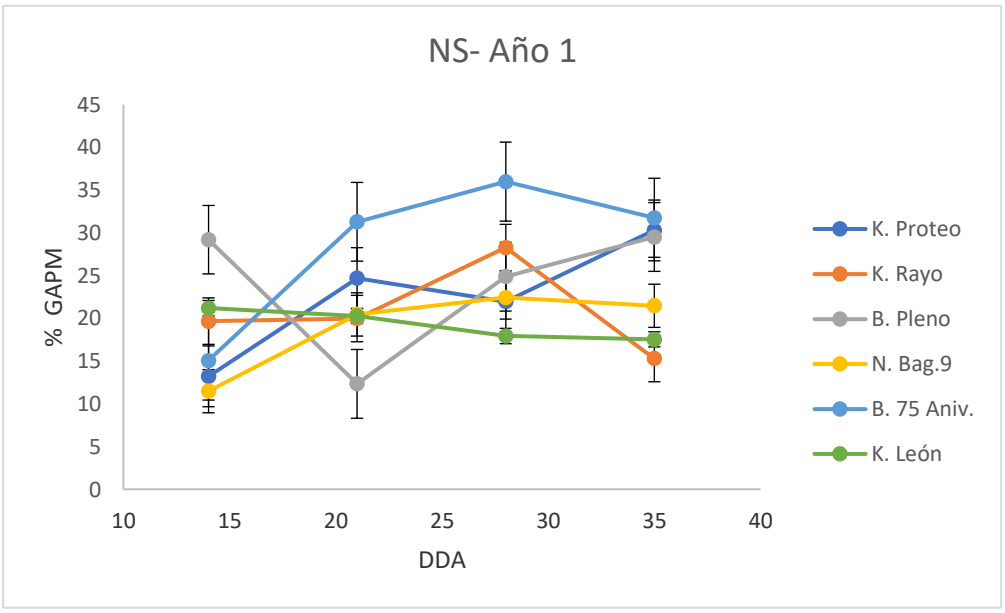
Las GAPM representaron entre 5,5 % y 31,1 % y entre 12,8 % y 26,1 % del total de proteínas del gluten a los 14 DDA, en el año 1 y 2, respectivamente. Mientras que a los 35 días alcanzaron valores entre 15,3% y 32,3% en el año 1 y entre 16 % y 25,8% en el año 2.

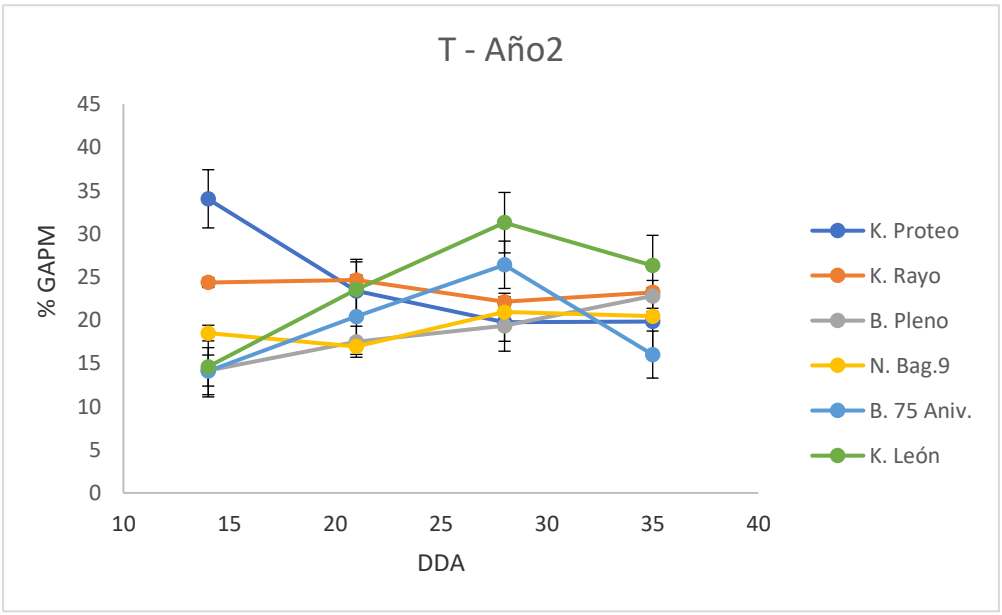
Aunque no se registraron diferencias significativas entre cultivares, ni entre años para la fracción de GAPM (Cuadro 5.2), se observaron distintas tendencias de los cultivares durante los diferentes tiempos de llenado (Figura 5.3), según el año del experimento y el tratamiento de fertilización, debido a las diferencias encontradas en la interacción V x F x A x DDA (Cuadro 5.2). Cabe destacar que, de las tres fracciones proteicas que conforman el gluten, el efecto de los distintos tratamientos de fertilización solo fue significativo para las GAPM (cuadro 5.2).


T - Año1
% GAPM
DDA
0
10
20
30
40
50
60
10
15
20
25
30
35
40
K. Proteo
K. Rayo
B. Pleno
N. Bag.9
B. 75 Aniv.
K. León

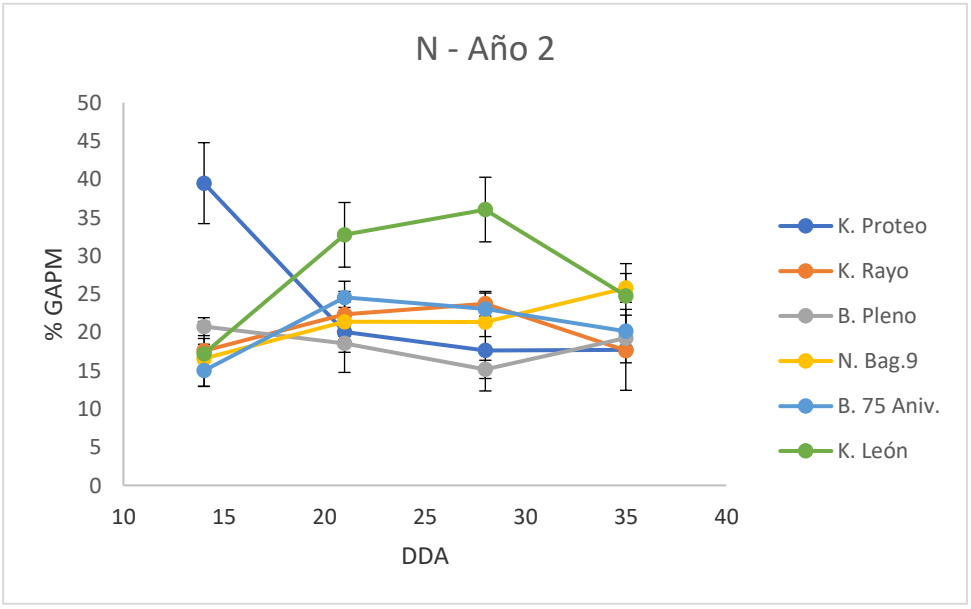
a-


N - Año 1
% GAPM
DDA
0
10
20
30
40
50
60
10
15
20
25
30
35
40
K. Proteo
K. Rayo
B. Pleno
N. Bag.9
B. 75 Aniv.
K. León


NS- Año 1
% GAPM
DDA
K. Proteo
K. Rayo
B. Pleno
N. Bag.9
B. 75 Aniv.
K. León


T - Año2
% GAPM
DDA
K. Proteo
K. Rayo
B. Pleno
N. Bag.9
B. 75 Aniv.
K. León

b-



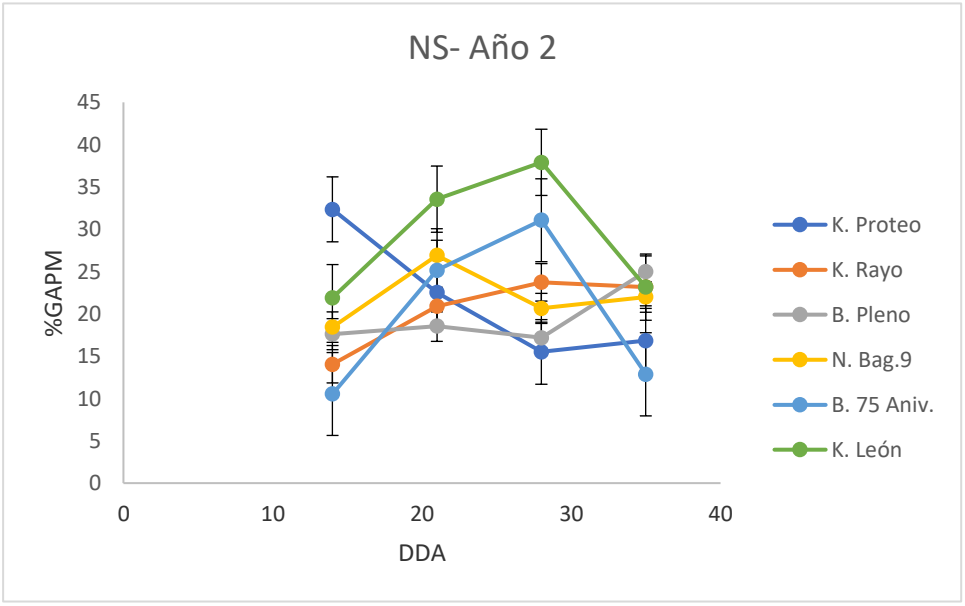




Figura 5.3: Gluteninas de alto peso molecular, GAPM, como porcentaje de las proteínas totales del gluten, para los seis cultivares analizados (K. Proteo, K. Rayo, B. Pleno, N. Bag 9, B. 75 Aniv. y K. León), en los tres tratamientos de fertilización (T: sin fertilización nitrogenada, N: fertilización nitrogenada y NS: fertilización nitrogenada y complementaria con N y S), en los distintos momentos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 días después de antesis- DDA), en el año 1 (a) y el año 2 (b).

El cultivar B. 75 Aniversario en el año 1, en todos los tratamientos de fertilización mostró una tendencia de aumento de la fracción de GAPM hasta los 28 DDA, a partir de la cual decayó, mientras que en el año 2 la tendencia observada es totalmente opuesta, es decir la fracción de GAPM cayó hasta los 28 DDA, a partir de la cual se estabilizó (Figura 5.3). Igualmente, este cultivar del GC3 a los 35 DDA obtuvo el mayor porcentaje de la fracción de GAPM. Cabe mencionar que según la composición de GAPM (*Glu-A1*: 1, *Glu-B1*: 7+8, *Glu-D1*: 5+10*)*, dicho cultivar tiene una calificación de calidad de 10 puntos (Cuadro 5.1); es decir que se verifica que la óptima combinación de subunidades no es suficiente para determinar alta calidad potencial, y en consecuencia otros aspectos contribuyen a definir la misma, por lo que en este caso la variedad fue categorizada dentro del grupo de trigos aptos para panificación directa por parte de INASE.

K. Rayo en el año 1 tuvo una curva similar a la de B. 75 Aniversario, pero con menor cantidad de GAPM en todos los tiempos de llenado muestreados. En el año 2, en los tratamientos N y NS la tendencia fue similar, aunque en el tratamiento T no se observaron variaciones. En este caso, al igual que con K. Proteo, se habrían esperado mayores niveles de GAPM por tratarse de cultivares de grupo de calidad 1, con una composición indicadora de buena calidad potencial *Glu-A1*: 2*, *Glu-B1*: 7*+8, *Glu-D1*: 5+10.

Por su parte B. Pleno en el año 1 mostró un alto porcentaje de GAPM a los 14 DDA, luego tuvo un decrecimiento, y un posterior aumento a partir de los 21 DDA hasta los 35 DDA. En cambio, en el año 2 esta caída se dio a los 28 DDA en los tratamientos con el agregado de fertilizante, mientras que en el tratamiento Testigo dicha caída no resultó demasiado relevante. Esta variedad pertenece al GC2, pero comparte su composición de GAPM (2*, 7+8, 5+10) con K. Rayo, por lo que ambos tienen 10 puntos según el Score de

Payne (Cuadro 5.1), aunque B. Pleno tiene en su composición GLI tipo CSS y K. Rayo las tiene tipo CNN, lo que implicaría una mejora en la calidad de las masas en esta última variedad (Gianibelli et al., 2001).

En el caso de K. León no se observan muchos cambios en la tendencia en el año 1, solo en el tratamiento N donde se registró un aumento a los 28 DDA, en tanto que en el año 2 la forma de la curva mostró un aumento hasta los 28 DDA, a partir del cual decreció. Este cultivar del GC3 tiene 5 puntos según el Score *Glu-1*, debido a su composición de GAPM (*Glu-A1*: N, *Glu-B1*: 7+9, *Glu-D1*: 2+12).

Lo observado en los cultivares B. 75 Aniversario, K, Rayo y B. Pleno en el año 1 coincide con lo reportado por Carceller y Aussenac (1999), quienes encontraron un crecimiento más abrupto de la fracción de GAPM durante la etapa de llenado de los granos en el cultivar Soissons (*Glu-A1*: 2*, *Glu-B1*: 7+8, *Glu-D1*: 5+10) de similar composición a los mencionados cultivares argentinos, con respecto al cultivar Thésée (N, 6+8, 2+12) con una calidad de GAPM inferior, equiparable al cultivar K. León. Solo a los 35 DDA la cantidad de GAPM de este último fue similar a la cantidad de GAPM de K. Rayo.

K. Proteo en el año 1 mostró un decrecimiento desde los 14 a los 21 DDA, luego un aumento hasta los 28 DDA y luego una caída nuevamente hasta los 35 DDA. En cambio, en el año 2 mostró una caída en el porcentaje de GAPM hasta los 28 DDA, a partir del cual se observó un mantenimiento hasta los 35 DDA.

N. Baguette 9 no mostró demasiados cambios en el %GAPM a lo largo del llenado, en ninguno de los dos años y en ningún tratamiento, excepto en el año 2 en el tratamiento NS donde se observó un mayor porcentaje de dicha fracción proteica a los 28 DDA. En el

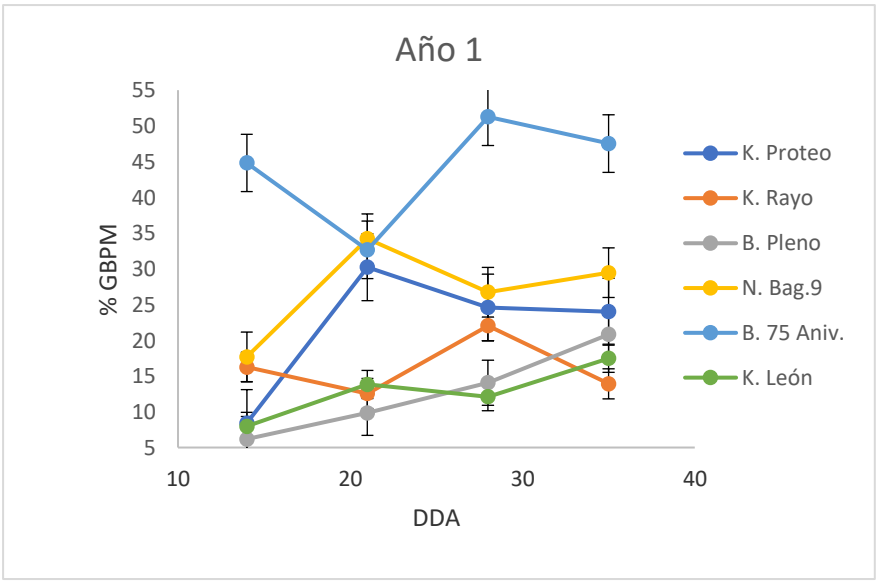
caso de N. Baguette 9 y K. León, de GC2 y GC3 respectivamente, aunque los dos portan las subunidades 2+12 en el locus *Glu-D1,* no se observaron cambios abruptos en la acumulación de GAPM en el año 1.

Cabe mencionar que en el año 1 hubo 5 días con temperaturas máximas por encima de los 30°C después de la floración del cultivo (31,8 °C a los 9 DDA, 30,1°C a los 11 DDA, 31,8°C a los 12 DDA, 30,4°C a los 28 DDA, y 31°C a los 30 DDA). En el año 2 también se registraron 5 días con temperaturas superiores a los 30°C (30,1°C a los 28 DDA, 33°C a los 29 DDA, 34,5°C a los 30 DDA, 32°C a los 31 DDA y 32,9°C a los 32 DDA). Justamente entre los 28 DDA y 35 DDA del año 2 se registró una caída abrupta en el %GAPM de B. 75 Aniversario y K. León, ambos cultivares de GC3, con distinta composición de GAPM, pero igual tipo de GLI. Esto podría ser un indicativo de que la cantidad de GAPM en dichos cultivares continuó depositándose durante etapas avanzadas del llenado de granos.

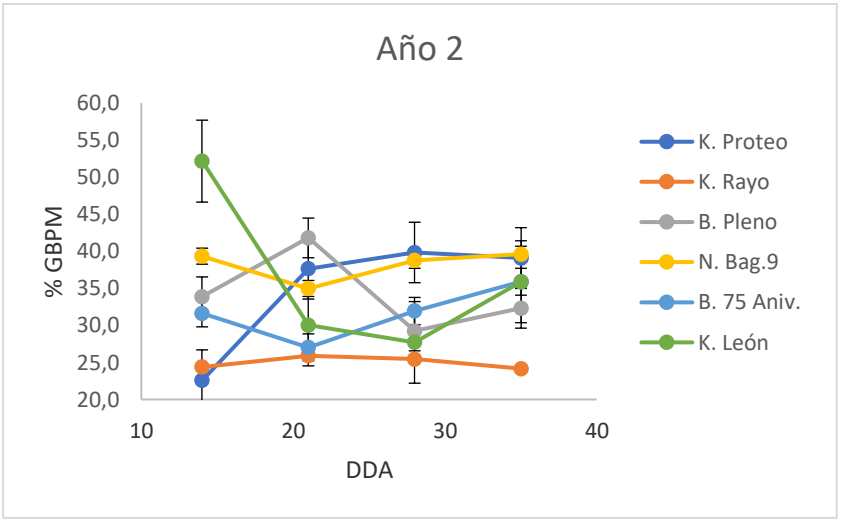
### 5.3.4 Acumulación de la fracción de GBPM durante el llenado de granos

Las GBPM representaron entre el 6,2% y 52,2 % del total de proteínas del gluten, dependiendo del cultivar y el tiempo del llenado.

En el año 1, a los 14 DDA las GBPM alcanzaron valores entre 6,2% y 44,8% del total de proteínas del gluten, mientras que a los 35 DDA tuvieron valores entre 13,6% y 47,9%, dependiendo el cultivar. En tanto que, en el año 2, las GBPM obtuvieron valores entre 22,6 % y 52,2 % a los 14 DDA, y entre 24,2 % y 34,6 % a los 35 DDA (Figura 5.4).




**a-**




**b-**

Figura 5.4: Gluteninas de bajo peso molecular, GBPM, como porcentaje de las proteínas totales del gluten en función de los días después de antesis (14, 21, 28 y 35 días después de antesis- DDA) para los seis cultivares analizados (K. Proteo, K. Rayo, B. Pleno, N. Bag 9, B. 75 Aniv. y K. León), en los distintos momentos del llenado de granos, en el año 1 (a) y el año 2 (b). Se muestran los promedios por variedad por no encontrarse diferencia entre tratamientos de fertilización.

No se observaron diferencias significativas en la cantidad de GBPM entre los tratamientos de fertilización, ni en ninguna interacción que incluyera dicha fuente de variación (Cuadro 5.2), por lo que puede inferirse que esta fracción de proteínas poliméricas resultó más estable frente a cambios en la disponibilidad tanto de N como de S, coincidiendo con los reportado por García Molina y Barro (2017). Aunque sí se observaron diferencias en la cantidad de GBPM entre variedades según el momento de llenado y el año. Por ejemplo, en al año 1, B. 75 Aniversario, tanto a los 14 DDA como a los 35 DDA, fue el cultivar que obtuvo el mayor porcentaje de GBPM, y aunque la forma de la curva fue similar en el año 2, las cantidades de dicho grupo proteico fueron mucho menores.

Con respecto a K. Proteo, la forma de la curva fue similar en los dos años de experimentos, y también los porcentajes de GBPM alcanzados. En los dos casos tuvieron una pequeña cantidad de GBPM a los 14 DDA alcanzando un aumento considerable a los 21 DDA y estabilizándose durante el resto de la etapa de llenado.

K. Rayo, por su parte, no presentó grandes variaciones en la cantidad de GBPM en los dos años, solo se evidenció una caída entre los 14 DDA y los 21 DDA en el primer año, con un posterior aumento hacia los 28 DDA, en tanto que, en el año 2, casi no se observaron variaciones de GBPM durante el llenado.

N. Baguette 9 mostró distinta tendencia en los dos años, presentando un considerable aumento de GBPM en el año 1 entre los 14 DDA y los 21 DDA, con una leve disminución a los DDA, mientras que en el año 2 se registró una disminución en el primer período analizado.

Por su parte, B. Pleno mostró siempre un aumento de la fracción de GBPM en el año 1, en tanto que en el año 2 se observó una mayor cantidad del grupo proteico a los 14 DDA, con un aumento hacia los 21 DDA, seguido por un decrecimiento.

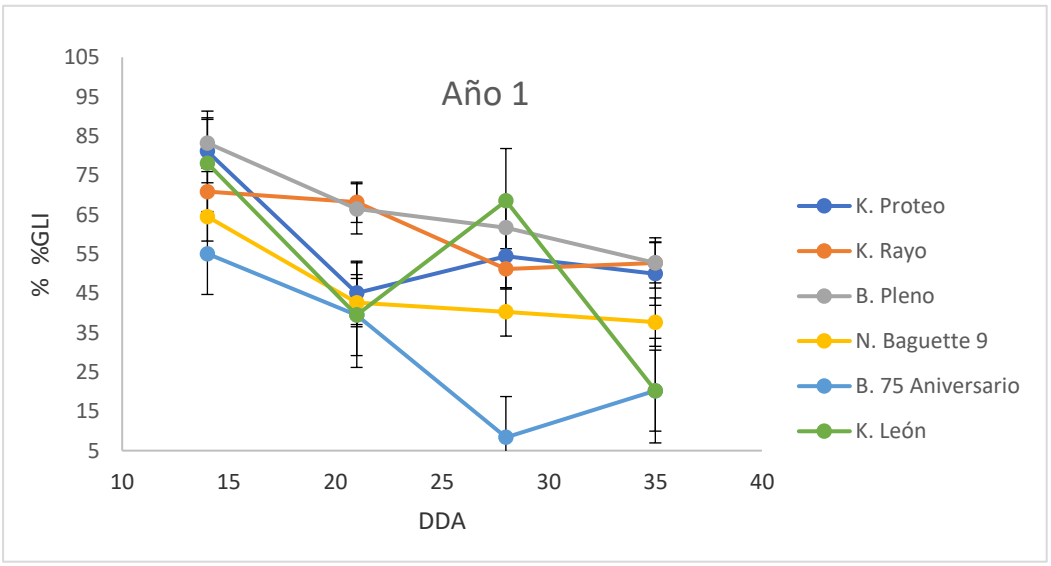
K. León mostró en al año 1 poca variación en la fracción de GBPM durante la etapa de llenado de granos, mientras en el año 2 tuvo más de un 50 % de la composición del gluten representada por las GBPM a los 14 DDA, que después decreció hasta aproximadamente la mitad a los 21 DDA, para luego mantenerse.

A grandes rasgos se podría considerar que la deposición de la fracción proteica de GBPM se estabilizó a los 28 DDA, por lo que no se observaron grandes cambios después de ese momento en el porcentaje de GBPM, y no se registraron importantes caídas en el año 2 a pesar de las altas temperaturas exploradas por el cultivo.

### 5.3.5 Acumulación de la fracción de gliadinas durante el llenado de granos

En el caso de las gliadinas, la cantidad que representan en relación a las otras proteínas que conforman el gluten varió significativamente entre cultivares, entre años y en los distintos momentos del llenado, resultando más estable entre los distintos tratamientos de fertilización. Esta respuesta en el grupo de proteínas monoméricas fue similar a la encontrada en las GBPM, sugiriendo que además del estrecho ligamiento genético que existe entre los genes que codifican para estas fracciones proteicas (Metakovsky 1990, Ruiz y Giraldo, 2021), los mismos tendrían comportamientos funcionales equivalentes.

a-




b-

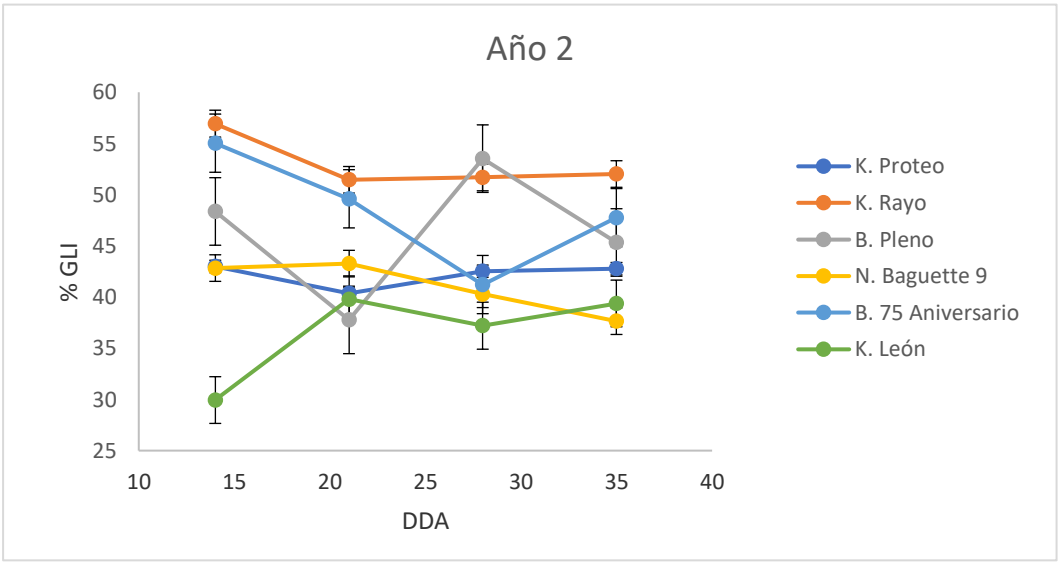



Figura 5.5: Gliadinas, GLI, como porcentaje de las proteínas totales del gluten, para los seis cultivares analizados (K. Proteo, K. Rayo, B. Pleno, N. Bag 9, B. 75 Aniv. y K. León), en los distintos momentos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 días después de antesis- DDA), en el año 1 (a) y el año 2 (b). Se muestran los promedios por variedad por no encontrarse diferencia entre tratamientos de fertilización.

A diferencia de lo reportado por Yu et al. (2021), quienes encontraron que la aplicación de fertilizante azufrado incrementó el porcentaje de GLI, en esta investigación no se pudieron comprobar los mismos resultados, probablemente porque como se detalló en el capítulo N°2 (Cuadro 2.2), el suelo no era deficiente en S.

En el año 1, la cantidad de GLI varió entre 55 % y 83,2 % a los 14 DDA y entre 20,2 % y 52,7 % a los 35 DDA, en tanto que en el año 2 variaron entre 29,9 % y 56,9 % a los 14 DDA y entre 37,7 % y 52 % a los 35 DDA. Esto coincide aproximadamente con la bibliografía, cuando cita que las gliadinas comprenden alrededor del 45 % de las proteínas del gluten en madurez fisiológica (Aussenac y Larbi, 2018) (Figura 5.5).

De esta forma, de los tres grupos proteicos que conforman el gluten, las gliadinas son las que se presentaron en mayor cantidad en los granos a los 14 DDA, esto indicaría que comenzaron a depositarse antes en la etapa de llenado que las gluteninas de alto y bajo peso molecular, de acuerdo con lo reportado por Stone and Nicolas (1994). Además, por tener el año 1 altas temperaturas (>30°C) al inicio de la etapa de llenado, se podría haber acortado la primera etapa del mismo (fase lag) donde ocurre una activa división de las células endospermáticas, y asociado al hecho que las GLI comienzan a depositarse antes que las proteínas poliméricas (Panozzo et al., 2001) se observa que a los 14 DDA existe un mayor porcentaje de GLI en el año 1 que en el año 2. En los dos años se observó una estabilización de la fracción de proteínas monoméricas a partir de los 21 DDA, para la mayoría de los cultivares, lo que podría indicar que además de comenzar antes su deposición también termina antes que la de la fracción de proteínas poliméricas.

Solo se observaron cambios abruptos en las GLI durante el llenado en los cultivares B. 75 Aniversario y K. León, en los dos años. Ambos cultivares son de GC 3 y tienen GLI tipo CNN.

### 5.3.6 Relación entre las fracciones proteicas del gluten

Además de cada fracción proteica en particular, es sabido que la relación entre las mismas, por ejemplo, la relación entre las proteínas poliméricas y las proteínas monoméricas, y entre las GAPM y las GBPM, inciden sobre la calidad de las masas y el volumen final de pan (Aussenac y Larbi, 2018).

Cuadro 5.3: Nivel de significancia de la relación Gluteninas/Gliadinas (GLU/GLI) y Gluteninas de alto peso molecular/Gluteninas de bajo peso molecular (GAPM/GBPM), de las distintas fuentes de variación analizadas: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), Año (A), Tiempos de muestreo o días después de antesis (DDA), y las interacciones V x F, V x A, V x DDA, F x A, F x DDA, A x DDA, V x F x A, V x F x DDA, F x A x DDA.

| | **GLU/GLI** | **GAPM/GBPM** |
|---|---|---|
| | p-value | p-value |
| **Variedad (V)** | <0,0001 | 0,0002 |
| **Fert (F)** | 0,9338 | 0,1149 |
| **Año (A)** | 0,9515 | <0,0001 |
| **DDA** | 0,0002 | 0,1879 |
| **V x F** | 0,9594 | 0,0101 |
| **V x A** | <0,0001 | <0,0001 |
| **V x DDA** | <0,0001 | 0,0187 |
| **F x A** | 0,3819 | 0,0301 |
| **F x DDA** | 0,8326 | 0,676 |
| **A x DDA** | 0,0001 | 0,6566 |
| **V x F x A** | 0,9173 | 0,0822 |
| **V x F x DDA** | 0,9991 | 0,4515 |
| **F x A x DDA** | 0,9351 | 0,1282 |

En el presente estudio se encontraron diferencias significativas en la relación Gluteninas/Gliadinas entre cultivares, entre los distintos tiempos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 DDA), y en las interacciones V x DDA, V x A, y A x DDA (Cuadro 5.3). Las diferencias entre los cultivares y en los distintos momentos del llenado de grano se explican en parte por las diferencias encontradas en las fracciones proteicas (Cuadro 5.2). Al no encontrar diferencias entre los tratamientos de fertilización, difiere de lo reportado por

Aussenac y Larbi (2018) y Yu et al., (2021), quienes le atribuyeron cambios en la relación proteínas poliméricas/proteínas monoméricas a la fertilización con N y S, respectivamente.

Por su parte, la relación entre las Gluteninas de alto peso molecular y las Gluteninas de bajo peso molecular, mostró diferencias en cuanto a los cultivares, el año analizado, y las interacciones V x F, V x A, V x DDA y F x A. En este caso, no se observaron diferencias ni entre los tratamientos de fertilización ni entre los distintos momentos del llenado, lo que difirió de lo mencionado por Southan y MacRitchie (1999), quienes reportaron un aumento de la relación GAPM/GBPM en cultivares creciendo con baja disponibilidad de S. En los experimentos realizados en Azul en ambos años la disponibilidad de S- SO4 proveniente del suelo fue moderada (Cuadro 2.2, Cap. N°2), por lo que no podrían considerarse estrictamente deficientes en dicho nutriente.

## 5.4 Conclusión

De los resultados analizados se puede concluir que las distintas prácticas de fertilización analizadas, es decir sin fertilizante nitrogenado, la fertilización tradicional con N y fertilización complementaria con NS, afectaron dentro de las fracciones proteicas que componen el gluten principalmente a las gluteninas de alto peso molecular, resultando a su vez diferente el comportamiento de cada genotipo según su patrón proteico.

# CAPÍTULO N°6. INCIDENCIA DE LA FERTILIZACIÓN TRADICIONAL CON NITRÓGENO Y COMPLEMENTARIA CON NITRÓGENO Y AZUFRE SOBRE LA ACUMULACIÓN DE SUBUNIDADES CONTRASTANTES DE GLIADINAS Y GLUTENINAS Y SU IMPACTO EN LA CALIDAD FINAL, EVALUADO EN LÍNEAS ISOGÉNICAS DE UN CULTIVAR DE TRIGO PAN

## 6. 1 Introducción

Las proteínas que componen el gluten, GAPM, GBPM y gliadinas, son las responsables de las características intrínsecas de las masas de trigo, y a su vez su expresión está condicionada por factores ambientales y por la interacción genotipo x ambiente (Gianibelli, 2001; Southan y MacRitchie, 1999). Si se consideran las fracciones proteicas mencionadas, mayormente la calidad industrial de trigo es atribuida a las GAPM, aunque también se ha demostrado que las GBPM y las gliadinas tienen efecto sobre la calidad de las masas (Gao et al., 2016; Yu et al., 2011), y algunos autores indican que el efecto sobre la calidad es debido a la combinación completa de GAPM, GBPM y GLI (Hernández Espinosa et al., 2013). En varias investigaciones (Payne, 1987; Liu et al., 2012; Zhao et al., 2020) se ha intentado estimar el efecto de distintos alelos de gliadinas y gluteninas sobre la calidad de las masas utilizando líneas isogénicas, es decir genotipos que difieren en un solo gen o un grupo de ellos y que comparten el resto del fondo genético, permitiendo de este modo precisar el efecto atribuible a cada alelo. Se han encontrado efectos positivos sobre la calidad industrial del trigo de varias subunidades, dando origen por ejemplo al Score *Glu-1* (Payne, 1987) el cual califica el efecto de las distintas subunidades de GAPM. Además se

ha demostrado la superioridad de algunas subunidades, por ejemplo: *Glu-A3f, Glu-B3b, Glu-B3g and Glu-B3i*$_{Man}$ sobre *Glu-A3e, Glu-B3a and Glu-B3i*$_{Chu}$ (Bonafede et al., 2015), o el par con la subunidad 7 sobreexpresada, 7*+8 sobre 17+18 en *Glu-B1* (Zhao et al., 2020), entre otros.

También se han investigado las diferencias en la acumulación de subunidades de GAPM en líneas isogénicas, encontrándose que el par *5+10 (Glu-D1)* implica una polimerización más temprana y a madurez un mayor contenido de gluteninas, que su contraparte en el locus *Glu-D1*con las subunidades 2+12 (Naeem et al., 2005).

Asimismo, teniendo en cuenta las prácticas de fertilización de los cultivos, tendientes a incrementar, tanto el rendimiento como la calidad de los granos, adquiere relevancia conocer la incidencia de aplicaciones foliares de nutrientes como N y S sobre las fracciones proteicas que conforman el gluten y la calidad final de las masas (Guerrini et al., 2020).

Los resultados presentados en capítulos previos mostraron diferencias entre las variedades en cuanto a atributos relacionados con la calidad panadera, como en la acumulación de distintas fracciones proteicas en respuesta a los tratamientos de fertilización. Particularmente, se observó que variedades pertenecientes a distintos grupos de calidad, como B. 75 Aniversario, K. Rayo y B. Pleno mostraron una alta acumulación de GAPM en los primeros días DDA, a diferencia de K. León. Teniendo en cuenta que entre ambos grupos, también hay diferencias en la composición de gluteninas, siendo K. León portadora de subunidades menos favorables para calidad panadera, a los efectos de entender si dicha respuesta diferencial en acumulación se debe, en alguna medida, a las subunidades

participantes, se plantea el estudio de líneas isogénicas como la estrategia más adecuada, en las que la composición proteica difiere principalmente en la incorporación de subunidades, tendientes a mejorar la calidad panadera. De la misma manera, el discernimiento sobre el origen de las diferencias observadas en la acumulación de gliadinas podría abordarse mediante la misma estrategia.

En consecuencia, en este capítulo se propone aportar conocimientos sobre cómo la utilización de fertilizantes foliares con N y S en estados avanzados del cultivo, afectan la acumulación y calidad final de líneas isogénicas con subunidades contrastantes para GAPM y para gliadinas derivadas de un cultivar argentino de trigo pan, ACA 901. Abordándose así el **objetivo específico Nº4 de esta tesis:** Profundizar el estudio del efecto de la fertilización tradicional con N, y complementaria con N y S, sobre la acumulación de subunidades contrastantes para los loci Glu-D1 y Glu-B1, expresadas en un fondo genético común con calidad potencial medio, y la calidad final de las mismas.

## 6. 2 Materiales y métodos

**6.2.1 Líneas isogénicas:** Se analizaron dos pares de líneas isogénicas desarrolladas a partir del cultivar ACA 901, perteneciente al GC2. En un par isogénico las subunidades de gluteninas *Glu-B1* 7+9 (con un puntaje de 2, según el Score creado por Payne en 1987) se reemplazaron por las subunidades *Glu-B1* 7 + 8 (con un puntaje de 3), donde además la subunidad 7 se encuentra sobre expresada, lo que determinaría mejor calidad aún (Vawser y Cornish, 2004); en tanto que, en el segundo par, el patrón para gliadinas identificado como tipo Chinese Spring (CSS), asociado a baja calidad, fue reemplazado por el patrón tipo

Cheyenne (CNN), asociado a buena calidad panadera. Las líneas isogénicas fueron desarrolladas por Dr. Marcos Bonafede, del Instituto de Recursos Biológicos, INTA. El desarrollo de las líneas se realizó por sucesivas retrocruzas siendo ACA 901 el padre recurrente. En cada ciclo, la selección de individuos heterocigotas en cada gen bajo estudio se realizó mediante proteinogramas. Luego de cinco retrocruzas, se procedió a la autofecundación, que permitió seleccionar dentro de sus progenies a los pares isogénicos indicados en el Cuadro 6.1. Es importante destacar que la línea N°1, en la cual las subunidades 7+9 del locus *Glu-B1* fueron reemplazadas por subunidades 7*+8, alcanza un Glu score de 10, a diferencia del resto de las líneas analizadas.

Cuadro 6.1: Composición de gluteninas de alto peso molecular (GAPM), tipo de gliadinas (GLI) y valor de Score Glu-1 (Payne, 1987) de dos pares de líneas isogénicas derivadas de ACA 901

| **Genotipo** | **GAPM** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ***Glu-A1*** | ***Glu-B1*** | ***Glu-D1*** | **tipo GLI** | **Score *Glu-1*** |
| 1 | 2* | 7*+8 | 5+10 | CSS | 10 |
| 2 | 2* | 7+9 | 5+10 | CSS | 9 |
| 3 | 2* | 7+9 | 5+10 | CSS | 9 |
| 4 | 2* | 7+9 | 5+10 | CNN | 9 |

**6.2.2 Experimento a campo**: El ensayo fue realizado en el año 2018 en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, en Azul, Buenos Aires, ubicado en la ruta nacional N° 3, km 307 (36º 49’ 53’’ latitud Sur, 59º 53’ 23’’ longitud Oeste).

El diseño experimental correspondió a un diseño en 3 bloques completos al azar con parcela dividida, donde la parcela principal fue el genotipo y la subparcela fue el tratamiento de fertilización. Cada parcela midió 3 $m^2$, consistiendo en 5 surcos a 20 cm de distancia.

La fecha de siembra fue el 8 de agosto. La densidad fue de 350 plantas.$m^{-2}$. La siembra se realizó con sembradora hortícola manual, previa incorporación de fertilizante fosforado, para asegurar suficiencia del nutriente (38 kg $ha^{-1}$ de P, como Superfosfato triple de calcio).

Los tratamientos de fertilización fueron: 1) Testigo (T), sin el agregado de fertilizante, 2) sólo con fertilización nitrogenada (N) (con el agregado de 180 Kg/ha de N, en forma repartida 40% en emergencia del cultivo o Zadoks 1, y 60% en macollaje o Zadoks 2. La fuente utilizada en este caso fue urea) y 3) un tercer tratamiento Nitro-Azufrado (NS) (con el agregado de urea como en el tratamiento anterior y la aplicación complementaria de 5 litros $ha^{-1}$ de un fertilizante foliar comercial (9% N amoniacal y 8% S) en el estado de bota o Zadoks 4.

Se controlaron las malezas manualmente durante todo el ciclo, y enfermedades mediante la aplicación de funguicidas con mochila cuando fue necesario.

En floración del cultivo (Zadoks 6.5) se marcaron al azar en cada subparcela 50 espigas en igual estado de desarrollo y a los 14, 21, 28 y 35 días después de antesis (DDA) se cosecharon 10 espigas al azar, se las secó en estufa a 60°C, se las pesó y se trillaron manualmente. Posteriormente se molieron los granos con molinillo eléctrico.

En madurez fisiológica del cultivo se cosecharon las espigas de 50 cm lineales de un surco de cada subparcela para realizar las determinaciones de calidad. Las espigas se trillaron manualmente y los granos se pesaron para estimar el peso de mil granos. Luego se molieron en un molinillo para granos obteniéndose la harina para realizar las determinaciones de calidad.

**6.2.3 Identificación y Cuantificación**: La identificación proteica de gliadinas y gluteninas de alto y bajo peso molecular se realizó a través de proteinogramas y la cuantificación de cada fracción se llevó a cabo por densitometría. Ambos métodos están descriptos en el capítulo N°5 de esta tesis.

**6.2.4 Calidad**. Los parámetros de calidad se estimaron sobre grano entero mediante equipo NIT, obteniéndose los valores de % Proteínas (% P), % Gluten (% GH) y peso hectolítrico (PH); además se contaron y pesaron los granos para obtener el Peso de mil granos (P1000), que luego se molieron y se obtuvo la fuerza del gluten a través del test de sedimentación en dodecil sulfato de sodio.

**6.2.5 Análisis estadístico**. La cantidad de cada fracción proteica acumulada en los distintos momentos del llenado de granos (14, 21, 28 y 35 DDA) fue estimada como el porcentaje de cada fracción (GAPM, GBPM, Gliadinas) respecto al total de proteínas del gluten. Los

datos fueron transformados a logaritmo natural y analizados como medidas repetidas mediante ANCOVA, con el tiempo como covariable. El paquete estadístico utilizado fue R.

Los parámetros de calidad fueron analizados con ANOVA, y las medias se compararon con el test de Fisher (α=0,05). El paquete estadístico usado en este caso fue Infostat (Di Rienzo et al., 2019).

## ´6. 3 Resultados y discusión

### 6.3.1 Acumulación de las fracciones proteicas durante el llenado de granos

Se obtuvieron geles de poliacrilamida a través de SDS-PAGE, en los que se identificaron y cuantificaron las fracciones proteicas en cada par isogénico (Figura 6.1 y 6.2).

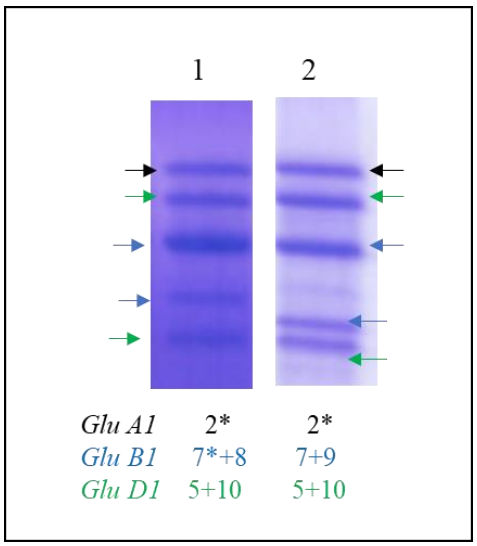


Figura 6.1: perfil proteico de gluteninas de alto peso molecular de las líneas isogénicas analizadas (perfil 1 corresponde a línea 1, y perfil 2 corresponde a líneas 2, 3 y 4).

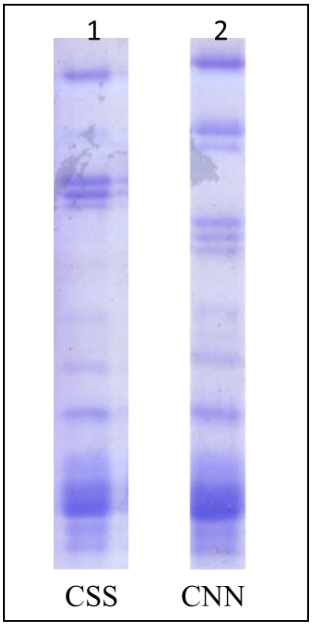



Figura 6.2: perfil proteico de gliadinas de las líneas isogénicas analizadas (perfil 1 corresponde a líneas 1, 2 y 3, perfil 2 corresponde a línea 4).

Para estudiar la acumulación de las distintas fracciones del gluten en cada par isogénico, se calculó el porcentaje de GAPM, GBPM y GLI del total de proteínas que conforman el gluten, para cada genotipo (G), tratamiento de fertilización (F) y en los distintos tiempos de muestreo durante el llenado o días después de antesis (DDA): 14, 21, 28 y 35.

Se observó en el Cuadro 6.2 que, de los grupos proteicos que conforman el gluten de las líneas isogénicas analizadas, solo se presentaron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de llenado de granos, como así también en el capítulo anterior se habían encontrado diferencias significativas en dicha fuente de variación en las variedades

comerciales analizadas en el Capítulo N°5 de esta tesis (Klein Proteo, Klein Rayo, Buck Pleno, Nidera Baguette 9, Buck 75 aniversario y Klein León), coincidiendo con lo expresado en la bibliografía (Rondanini et al., 2018). No hubo efecto de la fertilización, ni tampoco del genotipo en ninguna de las fracciones proteicas analizadas, lo que podría deberse al mismo fondo genético que tienen las líneas isogénicas utilizadas.

Cuadro 6.2: P-value de las gluteninas de alto peso molecular (GAPM), gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) y gliadinas (GLI), para las distintas fuentes de variación (F.V.) analizadas (Genotipo: G, Tratamiento de fertilización: F, Tiempo de muestreo de llenado o días después de antesis: DDA), y sus interacciones, en el par isogénico que difiere en el locus *Glu-B1 (7*+8* vs *7+9)*.

| **F.V** | **GAPM** | **GBPM** | **GLI** |
|---|---|---|---|
| | **p value** | **p value** | **p value** |
| **G** | 0,3915 | 0,7751 | 0,6947 |
| **F** | 0,1322 | 0,7117 | 0,4606 |
| **DDA** | 0,0042 | 0,0009 | 0,0034 |
| **G x F** | 0,4314 | 0,3346 | 0,3809 |
| **G x DDA** | 0,8078 | 0,4678 | 0,2722 |
| **F x DDA** | 0,2771 | 0,917 | 0,8584 |
| **G x F x DDA** | 0,0924 | 0,7215 | 0,9156 |

Li et al. (2020) encontraron que el genotipo con la composición de GAPM que incluía la subunidad 7 sobre-expresada presentaba mayor acumulación de dicha fracción proteica en comparación con el genotipo sin sobre-expresión. Cabe mencionar que además de las subunidades 7+8 (con y sin sobre-expresión), las líneas isogénicas del trabajo mencionado presentaban las subunidades 1 (*Glu-A1*) y 2+12 (*Glu-D1*) en su composición de GAPM, a diferencia de las analizadas en esta investigación en la que las líneas

isogénicas completan su patrón proteico con las subunidades 2* (*Glu-A1*) y 5+10 (*Glu-D1*), lo que, según el Score *Glu-1* (Payne, 1987), indica una mejor calidad que las anteriores. Si bien las líneas isogénicas estudiadas por Li et al, mostraban otra combinación de subunidades, no puede descartarse un efecto del umbral de nutrientes disponibles que explique las diferencias con los resultados observados en esta tesis.

Se puede observar en la Figura 6.3 que de las tres fracciones que conforman el gluten, las gliadinas comenzaron a depositarse a mayor tasa antes que las gluteninas, en coincidencia con la bibliografía (Rondanini et al., 2018).

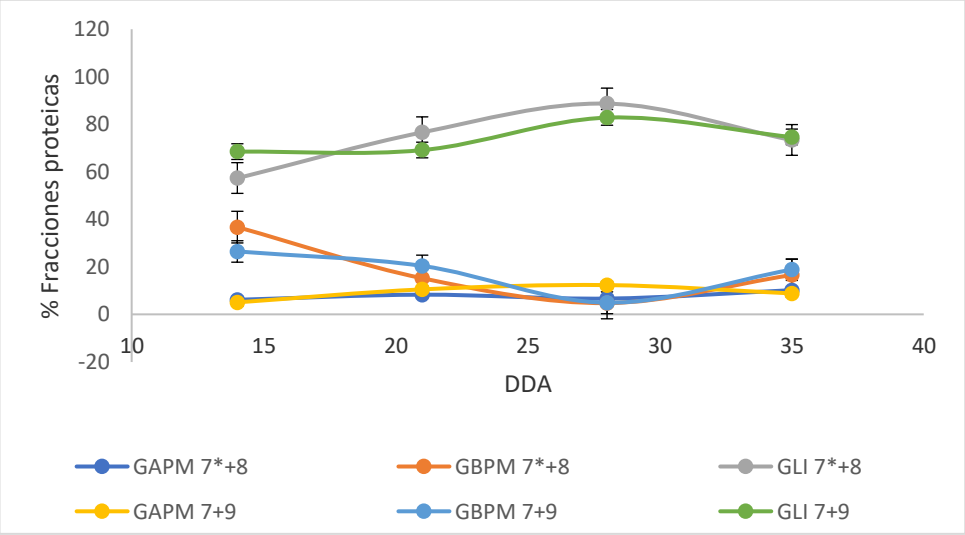



Figura 6.3. Porcentaje de gluteninas de alto peso molecular (GAPM), gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) y gliadinas (GLI), acumuladas a lo largo del llenado de los granos (14, 21, 28 y 35 DDA), en los genotipos con las variantes en el locus *Glu-B1* (7*+8 y 7+9).

A su vez, en madurez fisiológica se observó la predominancia de las proteínas monoméricas del gluten, por sobre las proteínas poliméricas, GAPM y GBPM (Figura 6.3), coincidiendo con Gianibelli et al. (2001) y con lo encontrado anteriormente en el capítulo

N°5 de esta tesis. Las GLI ascendieron a 73,36% y 74,64% del total de proteínas del gluten, las GAPM a 10,12% y 8,8% y las GBPM a 16,52% 18,8% en los genotipos 1 y 2 respectivamente (Cuadro 6.1; Figura 6.3).

Asimismo, no se observaron grandes diferencias en el patrón de acumulación de las fracciones proteicas que conforman el gluten entre los dos genotipos con diferencia en el locus *Glu B1* (Figura 6.3).

Por su parte, el par isogénico cuya diferencia radica en el tipo de gliadinas (CSS y CNN), no presentaron diferencias significativas en ninguno de los grupos proteicos que conforman el gluten, para ninguna de las fuentes de variación analizadas (G, F, DDA). Igualmente, las proporciones de cada fracción proteica durante el llenado se observan en la Figura 6.4.

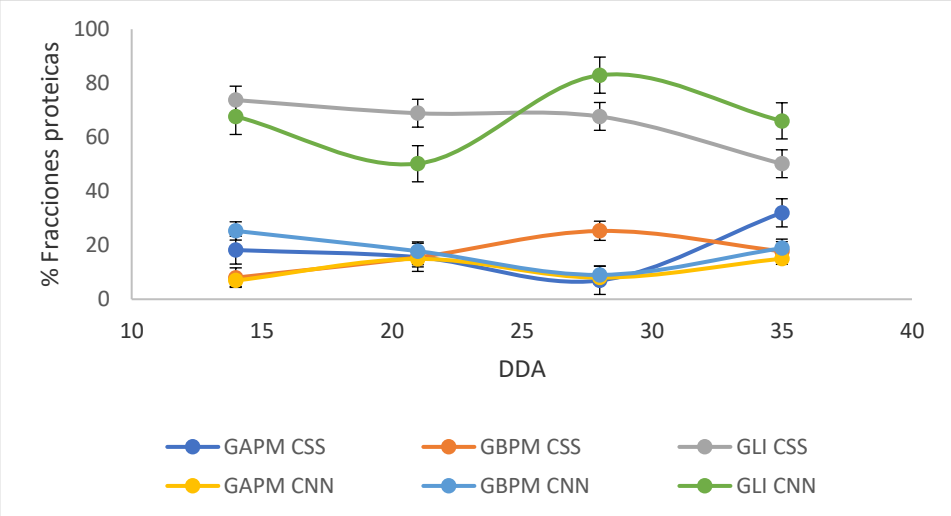


Figura 6.4. Porcentaje de gluteninas de alto peso molecular (GAPM), gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) y gliadinas (GLI), acumuladas en los distintos momentos de llenado de los granos (14, 21, 28 y 35 DDA), en los genotipos con diferencia en el tipo de gliadinas (CSS y CNN).

En la Figura 6.4 se observa, al igual que en la figura anterior, la predominancia de las gliadinas sobre las gluteninas dentro de las fracciones de proteínas que componen el gluten de trigo de los genotipos estudiados. En los genotipos con diferente patrón de GLI, las GLI llegaron a 50,22% y 66,01%, las GAPM a 32,01% y 15,1%, y las GBPM a 17,8% y 18,9%, en los genotipos 3 y 4 respectivamente (Cuadro 6.1; Figura 6.4).

### 6.3.2 Incidencia de la fertilización tradicional con nitrógeno y foliar complementaria con nitrógeno y azufre sobre el peso de mil granos (P1000), porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de gluten (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS)

Intentando analizar si las distintas fertilizaciones, tanto nitrogenada como nitro-azufrada complementarias, finalmente produjeron cambios en cuanto a la calidad en cada par isogénico, se midieron los parámetros que se presentan en el Cuadro 6.3.

Cuadro 6.3: P-value del peso de mil granos (P1000), porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de gluten (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS), para las distintas fuentes de variación: Genotipo (G), Tratamiento de fertilización (F) y la interacción G x F, para el par isogénico 7*+8 / 7+9 (*Glu-B1*).

| FV | P 1000 | % P | % GH | SDSS |
|---|---|---|---|---|
| G | 0,0808 | 0,3651 | 0,34 | 0,4557 |
| F | 0,9926 | 0,2664 | 0,3641 | 0,0002 |
| G x F | 0,971 | 0,559 | 0,008 | 0,1211 |

Como se observa en el Cuadro 6.3, no hubo diferencias significativas, ni para P1000, ni para %P, ni para %GH entre el par isogénico con diferencia en el locus *Glu-B1*, mientras que sí se presentaron diferencias en el %GH para la interacción G x F, y diferencias en fuerza de gluten (SDSS) en los diferentes tratamientos de fertilización.

A los efectos de interpretar el origen de la interacción G x F significativa, se analizó la respuesta de cada línea en cada tratamiento de fertilización aplicado. Como se observa en la Figura 6.5, tanto en el tratamiento Testigo, como en el tratamiento con fertilización complementaria con NS, se presentaron diferencias significativas entre los dos genotipos analizados, pero en el primer caso resultó superior la línea con las subunidades 7+9, en tanto que en el segundo caso obtuvo mayores valores el genotipo con la variante 7*+8. Estas respuestas contrapuestas explican la interacción observada. Por su parte, no hubo diferencias en el %GH entre las líneas isogénicas en el tratamiento fertilizado tradicionalmente con N.

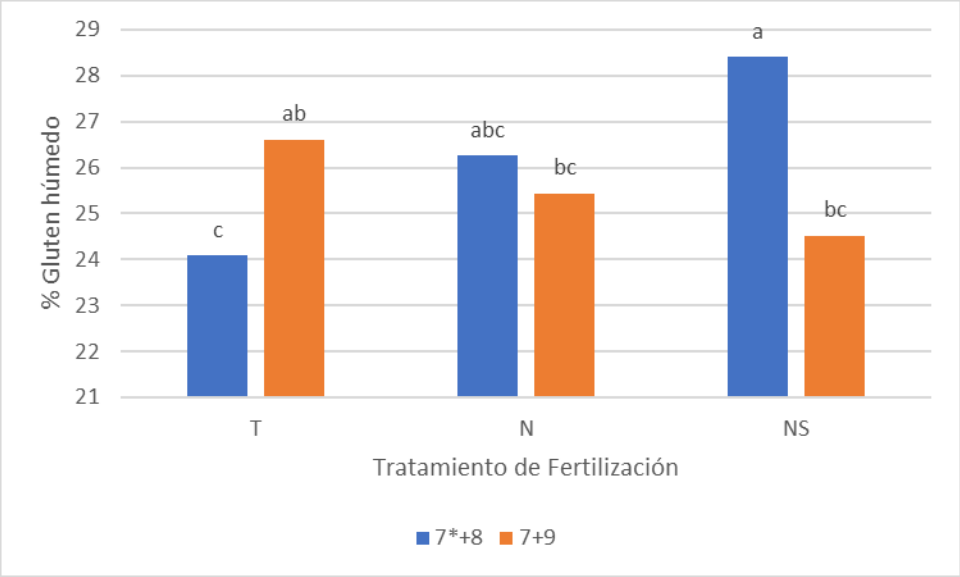



Figura 6.5: Porcentaje de Gluten húmedo (%GH) para los genotipos con las variantes en *Glu-B1*: 7*+8 y 7+9, en los distintos tratamientos de fertilización: Testigo (T), Nitrógeno (N) y Nitro-azufrado (NS). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05).

En el genotipo que incluyó en su composición la banda 7 sobre-expresada se presentó un incremento de 4,33% y 2,14% de GH entre el tratamiento fertilizado con NS y el testigo, y entre el tratamiento fertilizado tradicionalmente con N y el testigo, respectivamente, en concordancia con Agapie et al. (2020), quienes reportaron un incremento del 6,5% en el GH en una variedad de origen rumano fertilizado con un fertilizante a base de nitrógeno y azufre.

Lo observado para el genotipo con las subunidades 7*+8 en el tratamiento NS (Figura 6.5), coincide con lo demostrado por Tao et al. (2018), quienes encontraron que la disponibilidad de azufre se correlacionó positivamente con la producción de gluteninas y negativamente con la proporción de gliadinas, en distintos cultivares de trigo pan fertilizados en estados avanzados en el ciclo del cultivo.

Cuando se analizó la fuerza de gluten, estimada a través del test de sedimentación (SDSS), se observó que no hubo diferencias entre los dos tratamientos fertilizados, mientras que el tratamiento sin agregado de N tuvo un valor significativamente menor (Figura 6.6).

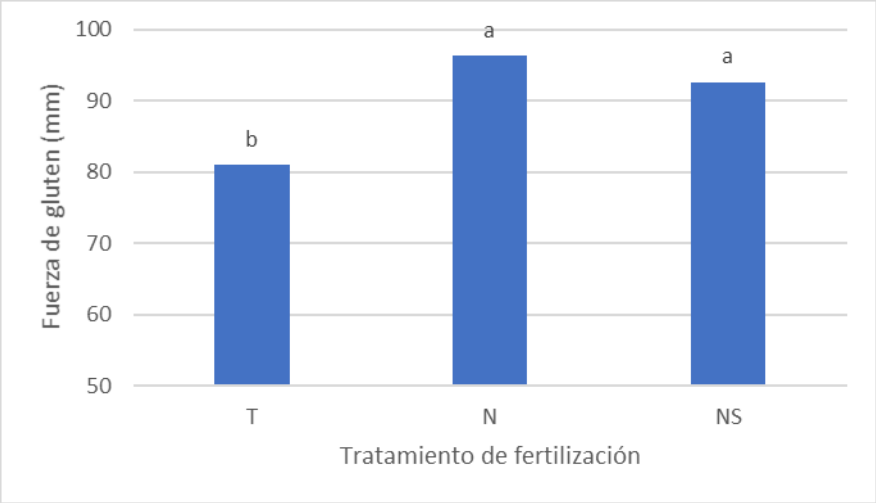



Figura 6.6: Promedio de fuerza de gluten para el par isogénico con las variantes en *Glu B1*: 7*+8 y 7+9, en los distintos tratamientos de fertilización: Testigo (T), Nitrógeno (N) y Nitro-azufrado (NS). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05).

Los presentes resultados indicarían que, aunque la fertilización complementaria determinó diferencias en la cantidad de gluten entre genotipos (Figura 6.5), esto no logró mejorar la fuerza del mismo en el par isogénico con diferencia en el locus *Glu-B1* (Figura 6.6).

Aunque la fuerza del gluten tiene relación con la funcionalidad de las masas, que no se hayan encontrado diferencias en los valores del test de sedimentación no implica que no pueda existir cambios desde el punto de vista reológico de las masas, como los reportados por Guerrini et al. (2020) en variedades de trigo de origen italiano.

En esta investigación la fertilización foliar complementaria favoreció el %GH en el genotipo que presentó la sobreexpresión de la banda 7 (7*+8), que supone una mejor calidad potencial que el genotipo con el par 7+9 (Zhao et al., 2020), y que por lo tanto podría percibir a nivel comercial en Argentina un sobreprecio. Además, también podría estar asociada esta respuesta a cambios en la calidad reológica de las masas como se observó en el capítulo N°4 de esta tesis.

En cuanto al par isogénico cuya diferencia radica en el tipo de gliadinas, CSS y CNN, se encontraron diferencias solo en la fuerza del gluten, estimada a través del test de sedimentación (SDSS), entre los distintos tratamientos de fertilización, no así para el peso de los granos (P1000), porcentaje de proteínas (%P) y porcentaje de gluten (%GH) (Cuadro 6.4), a diferencia de lo observado en el par isogénico con diferencia en GAPM. Es decir que la incidencia de las distintas prácticas de fertilización fue más relevante sobre el parámetro indicador de la calidad del gluten, y no sobre los parámetros cuantitativos.

Cuadro 6.4: P-value del peso de mil granos (P1000), porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de gluten (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS), para las distintas fuentes de variación: Genotipo (G), Tratamiento de fertilización (F) y la interacción G x F, para el par isogénico con gliadinas tipo CSS y gliadinas tipo CNN.

| FV | P 1000 | % P | % GH | SDSS |
|---|---|---|---|---|
| Genotipo (G) | 0,6097 | 0,8895 | 0,9967 | 0,046 |
| F | 0,8663 | 0,2147 | 0,1831 | 0,0298 |
| G x F | 0,6335 | 0,602 | 0,43 | 0,082 |

Adicionalmente, en la Figura 6.7 se observa, a diferencia del par isogénico con diferencia en las gluteninas, que solo hubo diferencias significativas entre el tratamiento NS con el testigo, resultando los tratamientos con fertilización nitrogenada similares entre sí. Esto indicaría que la aplicación del fertilizante con N, no logró mejorar significativamente la performance en cuanto a calidad del gluten de las líneas isogénicas analizadas, con respecto a los mismos genotipos sin ninguna aplicación de fertilizante.

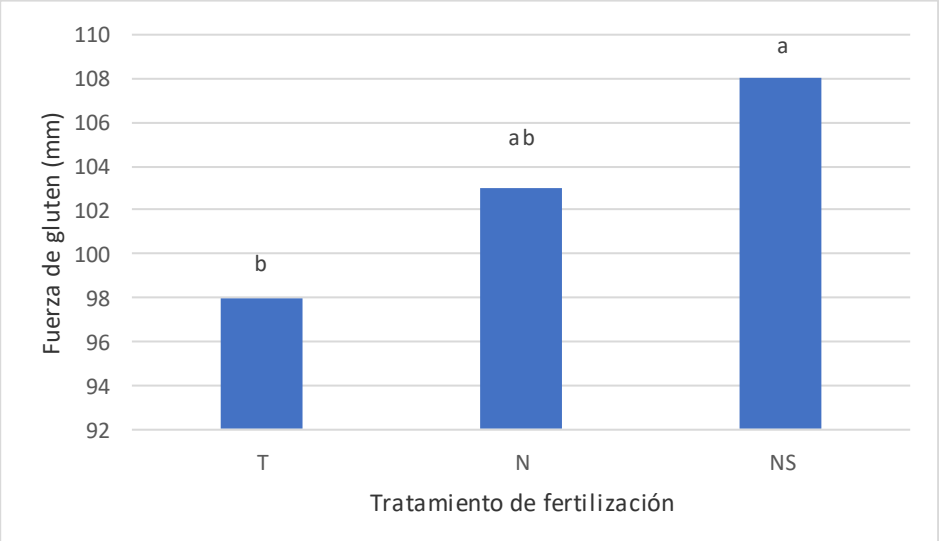



Figura 6.7: Promedio de fuerza de gluten para el par isogénico con las variantes en el tipo de gliadinas (CSS y CNN), en los distintos tratamientos de fertilización: Testigo (T), Nitrógeno (N) y Nitro-azufrado (NS). Letras distintas indican diferencias significativas (P= 0.05).

## 6.4 Conclusión

Si bien los resultados de la presente evaluación corresponden a un solo ensayo y deben ser validados a futuro, los mismos sugieren, al tratarse de material isogénico, que la dinámica de acumulación de las subunidades participantes no estaría afectada por los

tratamientos de fertilización aquí explorados. Se observa también que la falta de diferencias significativas en los parámetros de calidad analizados en los genotipos con distinto tipo de gliadinas (GLI tipo CSS y CNN) estarían de acuerdo con la bibliografía, la cual destaca que aunque las GAPM son el grupo minoritario dentro de las proteínas del gluten, su incidencia sobre la calidad es muy relevante (Gianibelli et al., 2001), aún más que las GLI que representan la mayoría del gluten. Esta situación podría explicar en parte que los genotipos con igual composición de GAPM no presentaron diferencias importantes en la calidad (Cuadro 6.4), a pesar de estar asociadas con diferente tipo de gliadinas.

Las diferencias observadas entre los resultados del presente capítulo con respecto al capítulo N°5, donde se encontraron diferencias en la dinámica de acumulación frente a tratamientos de fertilización, entre las variedades comerciales de trigo, sugiere que en las variedades hay variabilidad para otros genes involucrados en la dinámica de utilización de nutrientes y su movilización al grano, lo cual merece ser estudiado.

# CAPÍTULO N° 7: DISCUSIÓN GENERAL

El cultivo de trigo proporciona uno de los granos más ampliamente difundidos en el mundo para la alimentación humana, por lo que uno de los desafíos más importantes a futuro es generar buena cantidad y calidad de sus granos (Agapie et al., 2020).

Si comprendemos que tanto el rendimiento por unidad de superficie, como también la calidad de la harina que se obtiene de los granos de trigo, dependen del genotipo, del ambiente y de la interacción entre ambos (G x A) (Slafer et al., 2004), adquiere importancia conocer cuáles son las características de los genotipos disponibles en nuestro país, y las prácticas de manejo que apuntan a mejorar los resultados del cultivo atendiendo simultáneamente a los dos aspectos enunciados.

En Argentina, la clasificación de las variedades comerciales de trigo pan establecida por INASE (Instituto Nacional de semillas), basada en el índice de calidad formado por parámetros como: peso hectolítrico, porcentaje de extracción de harina, porcentaje de cenizas, porcentaje de proteínas en grano, gluten húmedo, fuerza de la masa (W del alveograma), estabilidad farinográfica y volumen de pan, es orientativa con respecto a la calidad panadera potencial de los cultivares. Sin embargo, se ha encontrado, que no siempre dicha discriminación reflejó fielmente la calidad obtenida, es decir que en la práctica, al momento del análisis de los granos/harinas obtenidas de la cosecha de los trigos de un determinado GC, los parámetros obtenidos no se correspondieron con la calidad esperada (Abbate et al., 2010; Arrigoni, 2015), probablemente en parte debido a las diferencias existentes en la composición de las proteínas que componen el gluten (GAPM, GBPM y

gliadinas) aún dentro de cada grupo y a la interacción G x A (Abbate et a., 2010; Lerner et al., 2013 y 2016).

A su vez, en los últimos años, se han comenzado a considerar prácticas de manejo de los cultivos tendientes a contribuir con la intensificación productiva asociada a la sustentabilidad de los sistemas (Andrade, 2020). Particularmente desde el punto de vista de la fertilización del cultivo de trigo se intenta considerar la elección de cada práctica teniendo en cuenta cada situación productiva particular, y seleccionando correctamente el fertilizante a utilizar, la dosis, momento y forma de aplicación (Reussi Calvo et al., 2020).

De esta forma, el uso de fertilizantes foliares, que implica una mejora en la absorción de nutrientes por parte del cultivo aún en condiciones de escasa disponibilidad hídrica (Ferrari et al., 2021), sumado a la utilización de mezclas que incluyan tanto nitrógeno como azufre, suponen una alternativa para complementar la fertilización tradicional del trigo (Guerrini et al., 2020).

Adicionalmente, si se pudiera realizar una aplicación de fertilizante en un estadío avanzado del ciclo del cultivo, tendiente a incrementar la calidad de los granos, además de seleccionar el genotipo de trigo, considerando la composición de proteínas del gluten, involucraría un manejo más apropiado del cultivo en la mayoría de las situaciones productivas.

La presente tesis doctoral, que presenta continuación con la investigación desarrollada durante la maestría académica finalizada en el año 2015 (Caracterización del patrón de gluteninas de bajo peso molecular de trigo pan (*Triticum aestivum* L.), y su efecto sobre el potencial uso final de la harina), y a su vez tiene concordancia con los proyectos

acreditados por la Universidad Nacional del Centro en el período en cuestión (Proyecto acreditado 03/A206, de 2015 a 2019; 03/A230, de 2019 a 2021), intentó contribuir con conocimientos originales desde el punto de vista científico sobre los temas mencionados anteriormente, y que resulten adecuados para transferirse y aplicarse a la producción de trigo en nuestro país a nivel comercial.

Por todo lo mencionado, y a modo de cierre de la presente investigación, en este capítulo se analizan de manera conjunta los resultados obtenidos en los capítulos precedentes: N° 2, 3, 4, 5 y 6, a la vez que se puntualiza el grado de cumplimiento de las hipótesis planteadas en la sección INTRODUCCIÓN.

Para la presente discusión se utilizó el análisis de la varianza, y análisis de tipo multivariado como análisis de componentes principales, del paquete estadístico INFOSTAT.

## 7.1 Acumulación de las fracciones proteicas que componen el gluten en variedades de trigo pan de distintos grupos de calidad

En el capítulo N°5 se analizó cómo transcurrió la acumulación de GAPM, GBPM y GLI, en 6 variedades comerciales argentinas de trigo pan originadas por distintos criaderos de semillas pertenecientes a los tres grupos de calidad (GC), con tratamientos de fertilización nitrogenada tradicional (N) y con fertilización complementaria foliar (NS + N tradicional), además de los mismos cultivares sin fertilizar.

Como ya se comentó ampliamente, la fracción de GAPM, es la que ha sido reportada como de mayor influencia sobre la calidad de las harinas (Payne, 1987; Gao et al., 2016). En este caso, también fue la única que presentó diferencias significativas en interacciones que incluyeron, tanto los distintos momentos de muestreo (14, 21, 28 y 35 DDA), los tratamientos de fertilización (T, N y NS), como así también los cultivares (Cuadro 5.2- Capítulo N°5).

Asimismo, cuando se analizó la proporción de GAPM al final del ciclo del cultivo, se observaron grandes diferencias, aún entre variedades dentro de cada grupo de calidad (Figura 5.3- Capítulo N°5), coincidiendo con lo reportado por Lerner et al. (2015). Esto probablemente se debe a que se seleccionaron para esta investigación cultivares con diferentes patrones proteicos, intentando abarcar las composiciones más frecuentes dentro de las variedades argentinas y que, a su vez, implicaran diferente calidad potencial según el Score *Glu-1* (Payne, 1987).

En función de los resultados obtenidos se considera que la ***hipótesis N°1***: *Variedades de trigo pan pertenecientes a distintos grupos de calidad (GC1, GC2 y GC3) muestran diferencias en el patrón de acumulación de las fracciones que conforman el gluten en respuesta a la fertilización complementaria (con N y S),* es ***VERDADERA***.

Adicionalmente, se podría finalizar profundizando que las fracciones proteicas que más se afectaron debido a las diferentes prácticas de fertilización durante el llenado de los granos, fueron las GAPM. Por otro lado, se encontraron diferencias entre variedades en los patrones de acumulación de las fracciones proteicas que componen el gluten, en forma similar a lo reportado por Carceller y Aussenac (1999) y Sakr et al.(2021), aún dentro de

cada grupo de calidad probablemente asociadas a las diferencias en las subunidades de GAPM (Cuadro 5.1- Capítulo N°5).

Asimismo, los resultados encontrados en esta investigación no implican que puedan establecerse patrones propios para cada grupo de calidad en función de las variedades analizadas.

## 7.2 Relación entre composición de GAPM, su acumulación y el rendimiento en grano

En relación con lo desarrollado en la sección anterior, y sin perder de vista la importancia del rendimiento por unidad de superficie del cultivo de trigo, surge el análisis de la relación entre la composición de GAPM, su proporción en el grano y el rendimiento de los genotipos.

En concordancia con los resultados encontrados en el capítulo N°5 con respecto a las diferencias significativas observadas en la acumulación de las GAPM durante el llenado de granos entre los distintos tratamientos de fertilización, se encontraron también diferencias en la proporción de dichas proteínas poliméricas en los granos maduros entre las distintas prácticas de fertilización analizadas (Cuadro 7.1), coincidiendo con Chope et al. (2014).

Además, las GAPM presentaron diferencias significativas entre variedades, años y en las interacciones F x V, A x V y F x V x A.

Cuadro 7.1: Nivel de significancia (Sig.) y porcentaje de explicación (%Exp.) de las diferentes fuentes de variación: Variedad (V), Tratamiento de fertilización (F), año (A), y sus interacciones F x A, F x V, A x V, F x A x V, para los parámetros analizados: Gluteninas de alto peso molecular (GAPM), gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) y gliadinas (GLI), de los experimentos realizados en los años 2014 y 2015 y las seis variedades de trigo ensayadas en esta tesis.

| **F. V.** | **GAPM** | | **GBPM** | | **GLI** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Sig.** | **% Exp.** | **Sig.** | **% Exp.** | **Sig.** | **% Exp.** |
| **Variedad (V)** | ** | 6,31 | *** | 49,27 | *** | 42,69 |
| **Fert (F)** | * | 2,60 | ** | 1,38 | NS | 0,29 |
| **Año (A)** | *** | 7,43 | *** | 23,73 | *** | 1,16 |
| **F x A** | NS | 0,92 | NS | 0,06 | NS | 0,00 |
| **F x V** | ** | 8,92 | ** | 3,46 | *** | 3,70 |
| **A x V** | *** | 60,59 | *** | 18,75 | *** | 47,75 |
| **F x A x V** | *** | 11,33 | NS | 2,00 | *** | 3,11 |

Los asteriscos *, ** y *** indican el nivel de significancia al 0,1, 0,05 y 0,01 y NS significa no significativo.

Como se observa en el Cuadro 7.1, también se encontraron diferencias significativas en las GBPM entre V, F, A y en las interacciones F x V y V x A. Por su parte las GLI difirieron entre V, A y en las interacciones F x V, V x A y F x V x A.

Continuando con el análisis, y tomando en cuenta que el objetivo principal de la presente investigación fue considerar la incidencia de la fertilización complementaria foliar con NS sobre las proteínas que componen el gluten, entre otros factores, y pretendiendo agrupar a los cultivares según la calidad de sus subunidades de GAPM, más allá de su grupo de calidad de pertenencia, y relacionado con lo explicado en la sección anterior (7.1),

se utilizó el Score *Glu-1* (Payne, 1987), a los efectos de entender dicha incidencia en términos relativos al rendimiento en grano logrado.

Para ello, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) que logró explicar el 83,9% de las diferencias encontradas. El CP 1 estuvo conformado por todas las fracciones proteicas, en tanto que el CP 2 se conformó solo con las gluteninas y el rendimiento por unidad de superficie (Fig. 7.1).

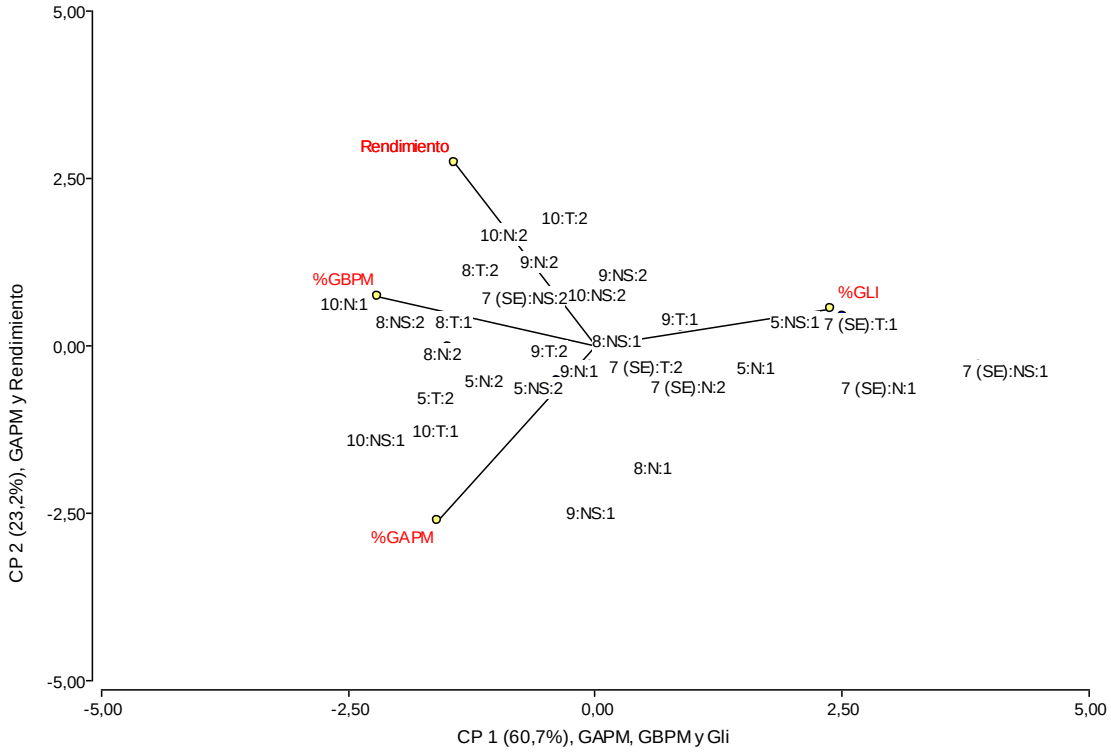



**Figura 7.1:** Análisis de componentes principales con las variables % GAPM, % GBPM, GLI y Rendimiento, clasificadas según el valor de Score *Glu-1* de calidad del genotipo, el tratamiento de fertilización (T, N y NS) y el año analizado (Año 1 y 2).

De la figura anterior (Fig. 7.1) se desprende que los genotipos con un puntaje de 10 en el Score de Payne, en el año 1 se encontraron en la zona del gráfico con mayor proporción tanto de GAPM, como de GBPM, en todos los tratamientos, mientras que los mismos genotipos en el año 2 se ubicaron cerca de la zona de rendimientos más altos.

Cabe recordar, como se puntualizó en el capítulo N°2, que las condiciones ambientales del año 1 fueron de temperaturas más templadas durante el ciclo del cultivo incluyendo la etapa de llenado de granos (Figura 2.2), hubo menos semanas con estrés hídrico (Cuadro 2. 1), y además el perfil de suelo estuvo mejor provisto de N (Cuadro 2.2) que en el año 2.

Algo similar ocurrió con el genotipo con puntaje de 9, el cual en el año 1 tuvo mayor contenido de GAPM en sus tratamientos fertilizados, y particularmente con el de fertilización complementaria, mientras que en el año 2 en los tratamientos fertilizados se ubicó en la zona del gráfico con mayores rendimientos.

El genotipo con 7 puntos de Score (K. Rayo), que además contó en su composición con la sobre-expresión de la banda 7 (*Glu-B1* 7*+8), en el año 1 se mostró cerca de la región del gráfico con mayor contenido de proteínas monoméricas. Por su parte el genotipo con 8 puntos (N. Bag. 9) se mostró cerca de la región del gráfico con mayores valores de GBPM en el año 2, en los tratamientos fertilizados.

En general los genotipos con menor calidad de subunidades de GAPM (puntajes 5 y 7) se ubicaron en la zona del gráfico con mayor proporción de proteínas monoméricas o GBPM y poco asociados al rendimiento, en tanto que los de calidad proteica superior presentaron una mayor proporción de proteínas poliméricas en la composición del gluten, y

particularmente GAPM, coincidiendo mayormente con los tratamientos de fertilización, y asociados al rendimiento en grano. Cabe recordar que, aunque hubo diferencias en los rendimientos, éstas no resultaron significativas entre los cultivares, como ya se discutió en el Capítulo N°3 de este trabajo.

Finalmente, luego de lo analizado se consideró ***VERDADERA*** la ***hipótesis N°2***: *Dentro de las fracciones proteicas que conforman el gluten de genotipos de trigo pan existen diferencias en su patrón de acumulación, en respuesta a la fertilización complementaria (con N y S), y son explicadas por las subunidades participantes*. Subunidades asociadas a mejor calidad panadera mostrarán incrementos en su concentración en grano en respuesta a la fertilización N/S, a igual incremento de rendimiento.

### 7.3 Influencia de la fertilización complementaria sobre la calidad final de trigo pan

Además de estudiar cómo la fertilización foliar complementaria con NS afectó al rendimiento de cultivares de trigo pan y la acumulación de los grupos proteicos que componen el gluten durante el llenado de granos (abordada en el capítulo N°5), es importante relacionarlo con el efecto sobre la calidad final de la harina de distintos genotipos (desarrollada en el capítulo N°3), en variedades comerciales de trigo y en líneas isogénicas con diferente calidad potencial.

Para relacionar los resultados obtenidos en los parámetros mencionados en los cultivares comerciales en los capítulos N°5 y N°3, se realizó un ACP relacionando las variables % GAPM, % GBPM, % GLI, W, % GH y SDSS, de las variedades comerciales

clasificadas según Score de calidad, los tratamientos de fertilización (T, N, NS) y el año (1 y 2), el cual logró explicar el 68,6% de las diferencias encontradas.

En este caso, el componente principal 1 se conformó por las variables: % GAPM, % GLI, % GH, W y SDSS, en tanto que el componente principal 2 se conformó con % GBPM, % GLI, % GAPM, W y SDSS.

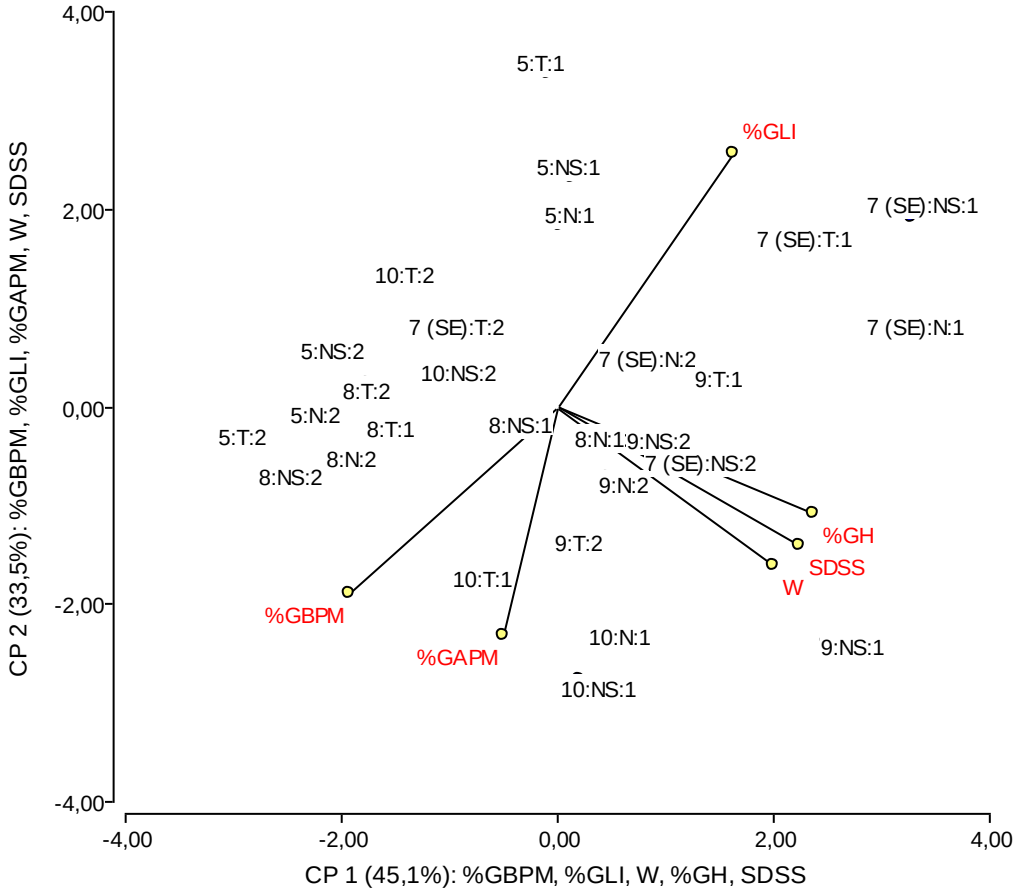



**Figura 7.2:** Análisis de componentes principales con las variables % GAPM, % GBPM, % GLI, W, %GH y SDSS, clasificadas según el valor de Score de calidad del genotipo, el tratamiento de fertilización (T, N y NS) y el año analizado.

En la Fig. 7.2 se observa cómo los genotipos con valores de índice de calidad superiores, 9 y 10, se ubicaron principalmente cerca de las mayores proporciones de GAPM y W, de lo que se podría inferir que dicha fracción proteica es una de las que más inciden sobre la calidad panadera, en coincidencia con Gao et al. (2016), estimada a través de la fuerza de la masa medida con el Alveógrafo de Chopin. Esto se observa sobre todo en los tratamientos fertilizados, en concordancia con Altenbach et al. (2016), y en el primer año de ensayo.

Además, y en concordancia con Landolfi et al. (2021), se observó durante esta investigación la incidencia de los factores ambientales y el manejo agronómico sobre los parámetros reológicos de las masas relevantes para la calidad de uso final.

Por su parte en el análisis del capítulo N°6 de esta tesis, no se pudo demostrar el efecto significativo de los tratamientos de fertilización N y NS sobre la acumulación de las distintas facciones proteicas que conforman el gluten en líneas isogénicas de la variedad ACA 901, aunque sí se registraron efectos sobre parámetros de calidad de las harinas, por ejemplo: sobre la fuerza de gluten que demostró superioridad en ambos tratamientos fertilizados, también sobre el porcentaje de gluten húmedo, el cual resultó superior en el genotipo con las subunidades asociadas a mejor calidad potencial (*Glu-B1* 7*+8), respecto al genotipo con las subunidades originales de la variedad comercial (*Glu-B1* 7+9) (Figs. 6.3 y 6.4, Capítulo N°6). Cabe destacar que los resultados mencionados en las líneas isogénicas corresponden a un solo año de ensayo a campo, y que ameritaría ser validado con un nuevo ensayo.

Los resultados sugieren la compleja trama de interacciones subyacente a la determinación del nivel de fracción proteica acumulada, en respuesta a la fertilización NS, bajo una condición en la que ninguno de esos elementos fue extremadamente limitante.

En este caso, las comparaciones demuestran que no son las subunidades per se las que traccionan la acumulación, sino que la acumulación en definitiva depende de la regulación de las complejas vías metabólicas que afectan la síntesis proteica (Yu et al., 2021), al menos bajo los niveles de disponibilidad nutricional aquí considerados.

Asimismo, lo encontrado en el análisis de los pares isogénicos probablemente no logró replicar exactamente los mismos resultados obtenidos por los efectos de los tratamientos de fertilización sobre la acumulación proteica en las variedades comerciales analizadas.

En función del análisis de los datos, se considera ***VERDADERA*** la ***hipótesis N°3***, *El efecto que las prácticas de fertilización complementaria (con N y S) sobre las distintas fracciones y subunidades proteicas del gluten de variedades argentinas de trigo pan pertenecientes a los distintos GC determina respuestas diferenciales en la calidad panadera.*

Nuevamente, similar a lo que sucedió en los casos anteriores, se observa la importancia de tener información sobre la composición de subunidades proteicas que conforman el gluten. Por lo tanto, sería deseable que a la información del GC se la complemente con la composición de GAPM, por ejemplo, a través del Score Glu-1.

### 7.4 Conclusiones y Perspectivas futuras

Teniendo en cuenta los conocimientos aportados con esta investigación, se considera que para realizar una producción adecuada del cultivo de trigo pan en nuestro país, tanto desde el punto de vista del rendimiento por unidad de superficie como de la calidad industrial de sus granos, requisito fundamental debido a su gran uso para consumo humano, se debería abordar un manejo del cultivo que implique en principio la selección del cultivar a sembrar en cada sitio, perteneciente al grupo de calidad acorde con el objetivo de producción, y de ser posible aún dentro del GC seleccionar por la composición de GAPM teniendo en cuenta la calidad potencial de las distintas subunidades proteicas.

Además, un buen manejo agronómico coincidente con las buenas prácticas agrícolas, debería incluir una correcta fertilización, lo que podría considerar que a la aplicación tradicional de N en estadios tempranos del cultivo tendiente a optimizar el rendimiento en grano, se la complemente con una fertilización foliar con N y S en estadios más avanzados del cultivo intentando incidir, tanto sobre la acumulación proteica en la etapa de llenado de granos como sobre la calidad final de las harinas, sobre todo en genotipos de mejor calidad potencial.

Adicionalmente, e intentando continuar con la línea de investigación desarrollada en esta tesis se plantean nuevas inquietudes relacionadas con estudiar alternativas a las prácticas de manejo consideradas como tradicionales en el cultivo de trigo en nuestra región, y analizar la incidencia de las mismas sobre la calidad de uso final de las harinas. Entre estas prácticas, resulta interesante por ejemplo considerar la aplicación de fitoestimulantes, que además de aportar nutrientes suelen usarse como antiestresantes

vegetales en los cultivos extensivos disminuyendo la probabilidad de aplicaciones de fungicidas, y su efecto sobre las fracciones proteicas que componen el gluten, principalmente las GAPM y la calidad industrial de las masas.

## BIBLIOGRAFÍA


Abbate, P. E. (2014). Principales atributos de calidad de los cultivares de trigo disponibles en la subregión IV.

Abbate. P. E. (2017). Bases ecofisiológicas del manejo del cultivo de trigo en la región pampeana. Divito, G y García, F. (eds). *Manual del cultivo de trigo*. Páginas 33-52.

Abbate, P. E., Gutheim, F., Polidoro, O., Milisich, H. J., Cuniberti, M. (2010). Fundamentos para la clasificación del trigo argentino por calidad: efectos del cultivar, la localidad, el año y sus interacciones. Agriscientia, 27(1), 1-9.

Abeledo, L; Serrago, R; de San Celedonio, R; Lo Valvo, P; Miralles, D. (2018). Limitantes al rendimiento en trigo y cebada. Revista de la facultad de agronomía UBA. Agronomía y ambiente. Rev. Facultad de Agronomía UBA (38) 1.

Agapie, A; Bostan, C; Horablaga; M. (2020). The sulfur importance for high qualitativ productions at Wint er wheat. Life Science and Sustainable Development, 1 (1).

Altenbach, S. B., Tanaka, C. K., Whitehand, L. C., & Vensel, W. H. (2016). Effects of post-anthesis fertilizer on the protein composition of the gluten polymer in a US bread wheat. Journal of Cereal Science, 68: 66-73.

Altenbach, S; Tanaka, C; Whitehand, L; Vensel, W. (2016). Effects of post-anthesis fertilizer on the protein composition of the gluten polymer in a US bread wheat. Journal of Cereal Science 68, 6673.

Alvarez, J; Guzmán, C. (2019). Recovery of Wheat Heritage for Traditional Food: Genetic Variation for High Molecular Weight Glutenin Subunits in Neglected/Underutilized Wheat. Agronomy 2019, 9(11), 755.

Andrade, F. H. (2020). Los desafíos de la agricultura global. Ediciones INTA.

Arrigoni, A. (2015). Caracterización del patrón de gluteninas de alto peso molecular de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) y su efecto sobre el potencial uso final de la harina. Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Producción Vegetal. EPG Alberto Soriano. FAUBA.+0

Aussenac, T; Larbi, R. (2018). Storage Proteins Accumulation and Aggregation in Developing Wheat Grains. Chapter 8. Global Wheat Production. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.75182.

Baasandorj, T., J.B. Ohm, F. Manthey & S. Simsek. (2015). Effect of kernel size and mill type on protein, milling yield, and baking quality of hard red spring wheat. Cereal Chemistry 92 (1): 81-87.

**Belderok, B., Mesdag, J., Mesdag, H., & Donner, D. A. (2000). Bread-making quality of wheat: a century of breeding in Europe. Springer Science & Business Media.**

Bietz. J. A., Wall, J. S. (1973). Isolation and characterization of glliadin-like subunits from glutenin. Cereal Chemistry 50: 537.

Bodega, J. L., Pereyra Iraola, M. M., de Dios, M. A. (2016). Análisis comparativo de la determinación del número de granos y rendimiento en la población argentina de alpiste y un cultivar semienano de trigo. Agronomía y ambiente Rev. Facultad de Agronomía UBA,36(1): 1-19, 2016.

Boletín agrometeorológico. Centro de Regional de Agrometeorología. Facultad de Agronomía de Azul. UNCPBA. Años 2014,2015,2018. ISSN 1666-4140. http://www1.faa.unicen.edu.ar/centro/boletin.php .

Bolsa de cereales de Buenos Aires. https://www.bolsadecereales.com/.

Bolsa de Cereales de Buenos Aires: http: https://www.bolsadecereales.com/ .

Bonafede, M. D., Tranquilli, G., Pflüger, L., Peña, R. Dubcovsky, J. (2015). Effect of allelic variation at the Glu-3/Gli-1 loci on breadmaking quality parameters in hexaploid wheat (Triticum aestivum L.). Journal of Cereal Science 62: 143-150.

Branlard G., Dardevet M., Amiour N., Igrejas G. (2003). Allelic diversity of HMW and LMW subunits and omega gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum*. L). Genetics Resources and Crop Evolution 50: 669-679.

Branlard G., Dardevet M., Saccomano R., Lagoutte F., Gourdon J. (2001). Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. Euphytica. 119: 59-67.

Branlard, G; Faye, A; Rhazi, L; Tahir, A; Lesage, V; Aussenac, T. (2020). Genetic and Environmental Factors Associated to Glutenin Polymer Characteristics of Wheat. Foods 9(5):, 683.

Caviño, P., Sadras, V. (2003). On-farm assessment of constraints to wheat in relation to different previous crops. Journal of agricultural science 118:157-163.

Carceller, J. L., Aussenac, T. (1999). Accumulation and changes in molecular size distribution of polymeric proteins in developing grains of hexaploid wheats: role of the desiccation phase. Functional Plant Biology,26(4): 301-310.

Carceller, J; Aussenac, T. (2001). Size Characterisation of Glutenin Polymers by HPSEC-MALLS. Journal of Cereal Science 33 (2001) 131–142.

Carrillo, J., Vazquez, J., Orellana, J. (1990). Relationship between gluten strength and glutenin proteins in durum wheat cultivars. Plant Breeding, 104: 325–333.

Chope, G.A; Wan, Y; Penson,S.P; Bhandari, D.G; Powers, S.J; Shewry, P.R; Hawkesford, M.J. (2014). Effects of Genotype, Season, and Nitrogen Nutrition on Gene Expression and Protein Accumulation in Wheat Grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 62(19): 4399–4407.

Cornish, G. B., Békés, F., Eagles, H. A., Payne, P. I. (2006). Prediction of dough properties for bread wheats. En Wrigley, C., Békés, F., Bushuk, W. Eds. Gliadin and glutenin: the unique balance of wheat quality. (pp 243-280) American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, USA.

Cuniberti, M. (2016). Laboratorio de Calidad Industrial y Valor Agregado de Cereales y Oleaginosas. Problemática actual de la calidad del trigo argentino Campaña 2015/16.

Cuniberti, M.B. (2004). Clasificación del trigo como valor agregado. Nuevo estándar de comercialización. 1ra Jornada de Trigo de la Región Centro. Córdoba, Argentina. 45 pp.

Daba, N. A. (2017). Influence of Nitrogen Fertilizer Application on Grain Yield, Nitrogen Uptake Efficiency, and Nitrogen Use Efficiency of Bread Wheat (Triticum aestivum L.) Cultivars in Eastern Ethiopia. Journal of Agricultural Science; Vol. 9, 1916-9760.

Dai, Z., Yin, Y., Li, Y., Cao, L., & Wang, Z. (2014). Grain position in spike of wheat (Triticum aestivum L.) affects glutenin macropolymer particles distribution. Agrociencia, vol. 48 (3): 295-306.

De la Vega Ruiz, G. (2009). Proteínas de la harina de trigo: Clasificación y propiedades funcionales. Temas de Ciencia y Tecnología, 13 (38): 27-32.

De Santis, M., Giuliani, M., Flagella, Z., Reineri, A., Blandino, M. (2020). Impact of nitrogen fertilisation strategies on the protein content, gluten composition and rheological properties of wheat for biscuit production. Field Crops research, vol 254.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., Robledo, C. W. (2019). Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Díaz-Delavalle, P; DallaRizza, M; Vazquez, D; Castro, M. 2006. Elementos de Análisis Cualitativo y Cuantitativo en Proteínas del Gluten de Trigo. Agricultura Técnica. 66(4):360-369.

Dick, J.W., Quick, J.S. (1983). A modified screening test for rapid estimation of gluten strength in early-generation durum wheat breeding lines. Cereal Chemistry 60: 315-318.

Dilchneider, A; Frasier, I; Funaro, D; Fernández, R; Quiroga, A. (2019). Estrategias de fertilización nitrogenada para incrementar el rendimiento y proteína de trigo en la región semiárida pampeana. SEMIÁRIDA Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam Vol 29(1): 5362.

Divito, G., Correndo, A., García, F. (2017). La nutrición del cultivo de trigo. Divito, G y García, F (eds). *Manual del cultivo de trigo*. Ediciones IPNI. 1era Edición. Páginas 67-84.

D'Ovidio, R., Masci, S. (2004). The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. Journal of Cereal Science, 39(3): 321-339.

Dupont, F.M., Altenbach, S. B. (2003). Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. Journal of cereal science 38:133-146.

Dupont, F., Hurkman, W., Vensel, W., Tanaka, C., Kothari, K., Chung, O., Altenbach, S. (2006). Protein accumulation and composition in wheat grains: Effects of mineral nutrients and high temperature. Europ. J. Agronomy 25: 96–107.

FAO. (2017). Datos de producción de cereales. ( https://www.fao.org/faostat/es/#data).

Fernandez, R., Galantini, J., Landriscini, M. (2007). Efecto del nitrógeno y del azufre sobre la calidad del trigo SD. Calidad panadera del trigo. AAPRESID.

Ferrari, M., Dal Cortivo, D., Panozzo, A., Barion, G., Visioli, G., Giannelli, G:, Vamerali, T. (2021). Comparing Soil vs. Foliar Nitrogen Supply of the Whole Fertilizer Dose in Common Wheat. Agronomy 11, 2138. https://doi.org/10.3390/agronomy11112138.

Ferraris, G. (2007). Nitrógeno y Azufre en trigo. Un caso particular de interacción entre nutrientes. Información técnica de trigo y otros cultivos de invierno, campaña 2007. Publicación Miscelánea Nº 107 35.

Ferraris, G; Toribio, M; Falconi, R; Morionis, F. (2015). Efectos de diferentes estrategias de fertilización sobre los rendimientos, el balance de nutrientes y su disponibilidad en los suelos a largo plazo. IAH 19.

Figueroa, I., Peña, R., Rayas-Duarte, P., Khan, K. (2011). Influence of low molecular weight glutenin subunits on wheat kernel elaasticity and sedimentation volumen. Cereal Research Comunications, 39 (2) 237- 245.

Fisher R.A. 1985. Number of kernels en wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. J. Agric. Sci. Cambridge 105: 255-267.

Flæte, N. S., Hollung, K., Ruud , L., Sogn, T., Færgestad , E., Skarpeid, H., Magnus, E., Uhlen, A. (2005). Combined nitrogen and sulphur fertilisation and its effect on wheat quality and protein composition measured by SE-FPLC and proteomics. Journal of Cereal Science 41: 357–369.

Flaete, N., Uhlen, A. (2003). Association between allelic variation at the combined Gli-1, Glu-3 loci and protein quality in common wheat (Triticum aestivum L.). Journal of Cereal Science, 37:129- 137.

Fossati, D., Brabant, C., Kleijer, G., Brandstetter, A., Geppner, M., Grausgruber, H., Buchgraber, K. (2011). Yield, protein content, bread making quality and market requirements of wheat. Höhere Bundeslehr-und Forschungsanstalt für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein, 179-182.

Gao, X; Liu, T; Yu, J; Li, L; Feng, Y; Li, X. (2016). Influence of high-molecular-weight glutenin subunit composition at Glu-B1 locus on secondary and micro structures of gluten in wheat (Triticum aestivum L.). Food Chemistry 197: 1184–1190.

Gao, S; Sun, G; Liu, W; Sun, D; Peng, Y; Ren, X. (2020). High-molecular-weight glutenin subunit compositions in current Chinese commercial wheat cultivars and the implication on Chinese wheat breeding for quality. Cereal Chemistry. 2020;97:762–771.

García, F., Reussi Calvo, N. (2014). Capítulo N°14: trigo. Echeverría, H y García, F (eds). *Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos*. Páginas 401-434.

García Molina, M; Barro, F. (2017) Characterization of Changes in Gluten Proteins in Low-Gliadin Transgenic Wheat Lines in Response to Application of Different Nitrogen Regimes. Front. Plant Sci., 27 (2017) volumen 8.

García, A. (2004). Manejo de la fertilización con nitrógeno en trigo y su interacción con otras prácticas agronómicas. serie técnica n°144. INIA.

Gianibelli, M.C., Larroque, O.R., MacRitchie, F., Wrigley, C.W. (2001). Biochemical, Genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. Cereal Chemistry 78: 635-646.

Gómez, Dionisio. (2011). Interacción genotipo por ambiente sobre caracteres de calidad comercial e industrial en trigo pan (Triticum aestivum L.). Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Producción Vegetal. EPG Alberto Soriano. FAUBA.

Guerrini, L; Napoli, M; Mancini, M; Masella, P; Cappelli, A; Parenti, A; Orlandini, S. (2020) Wheat Grain Composition, Dough Rheology and Bread Quality as Affected by Nitrogen and Sulfur Fertilization and Seeding Density. Agronomy 10, 233.

Gupta R.B., Paul, J.G., Cornish, G.B., Palmer, G.A., Bekes, F., Rathjen, A.J. (1994). Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of common wheat, I: its additive and interaction effects on dough properties, Journal of Cereal Science 19: 9–17.

Gupta R. B., MacRitchie F. (1991). A rapid one-step one-dimensional SDS-PAGE procedure for analysis of subunit composition of glutenin wheat. Journal of Cereal Science 14: 105-109.

Gupta, R.B., MacRitchie, F. (1994). Allelic variations of glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, HGlu-3 and Gli-1 of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. Journal of Cereal Science 19: 19-29.

Guzmán, C., Mondal, S., Govindan, V., Autrique, J., Posadas Romano, G., Cervantes, F., Crossa, J., Vargas, M., Singh, R., Peña, R. (2016). Use of rapid tests to predict quality traits of CIMMYT bread wheat genotypes grown under different environments. LWT - Food Science and Technology 69: 327-333.

Hernández Espinosa, N., Posadas Romano, G., cervantes Lopez, F., Gonzalez Santoyo., H. I., Santacruz Varela, A., Benítez Riquelme, I., Peña Bautista, R. J. (2013) contribución de combinaciones de gluteninas a las características del gluten en poblaciones recombinantes de trigo. Revista Fitotécnica Mexicana, 36 (1): 45- 51.

INASE. (2019). https://www.argentina.gob.ar/inase/red-de-ensayos-comparativos-de-variedades-de-trigo/grupo-de-calidad-de-trigo-pan.

Jarvan, M., Edesi, L., & Adamson, A. (2012). The content and quality of protein in winter wheat grains depending on sulphur fertilization. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B–Soil & Plant Science, 62(7): 627-636.

Kasarda DD. (1999). Glutenin polymers: The in vitro to in vivo transition. Cereal Foods World, 44: 566–571.

Kizilgeci, F., Yildirim, M., Hossain, A. (2019). Evaluation of growth, yield, quality and physiological parameters of eleven Australian bread wheat (Triticum aestivum L.) cultivars grown under the ecological condition of Diyarbakir, Turkey. Int. J. Agric. Environ. Food Sci., 3(1),34-40. DOI: https://doi.org/10.31015/jaefs.2019.1.8

Koga, S., Aamot, H. U., Uhlen, A. K., Seehusen, T., Veiseth-Kent, E., Hofgaard, I. S., Moldestad, A., B€ocker, U. (2020). Environmental factors associated with glutenin polymer assembly during grain maturation. Journal of Cereal Science 91, 102865.

KOMUGI (2021). https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassListAction.do?geneClassificationId=339.

Lafiandra, D., D´Ovidio, R., Porceddu, E., Margiotta, B., Colaprico, G. (1993). New data supporting high Mr glutenin subunit 5 as the determinant of quality differences among the pairs 5+10 vs. 2+12. Journal of cereal Science, 18. 197-205.

Landolfi, V., D´auria, G., Nicolai, M., Nitride, C., Blandino, M., Ferranti, P. (2021). The effect of nitrogen fertilization on the expression of protein in wheat and tritordeum varieties using a proteomic approach. Food Research International 148, https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110617.

Landolfi, V., Visioli, G., Blandino, M. (2021). Effect of Nitrogen fertilization and fungicide application at heading on the gluten protein composition and rheological quality of wheat. Agronomy 11, 1687. https://doi.org/10.3390/agronomy11091687.

Landriscini, M; Martínez, J; Galantini, J. (2015). Fertilización foliar con Nitrógeno en trigo en el sudoeste bonaerense CIENC SUELO (ARGENTINA) 33(2): 183-196.

Lerner, S E; Kolman, M. A.; Rogers, W. J. (2009). Quality and endosperm storage protein variation in Argentinean grown bread wheat. I. Allelic diversity and discrimination between cultivars. Journal of Cereal Science, 49:337-345.

Lerner, S. E, Arrigoni, A. C, Arata, A. F. (2013). Uso del nitrógeno y calidad industrial en cultivares argentinos de trigo pan (*Triticum aestivum* L.). Revista RIA- INTA 39 Nº1. ISSN en línea 1669-2314- ISSN edición impresa 0325-8718.

Lerner, S. E., Arata, A. F., & Arrigoni, A. C. (2016). Relación entre eficiencia de uso del nitrógeno y calidad industrial en variedades argentinas de Trigo Pan (*Triticum aestivum* L.) con distinta composición de gluten. RIA. Revista de investigaciones agropecuarias, 42(1): 29-40.

Lezcano, E. (2011). Evolución de los principales indicadores sectoriales en el período 2002-2011. Cadena de la Harina de Trigo. Página web de Alimentos Argentinos – MinAgri. www.alimentosargentinos.gob.ar.

Li, S; Liua, Y; Tonga, Y; Yua, L; Dinga, M; Zhanga, M; Rehmanb, A; Majzoobic, M; Wanga, Z; Gaoa, X. (2020). The overexpression of high-molecular-weight glutenin subunit Bx7 improves the dough rheological properties by altering secondary and micro-structures of wheat gluten Food Research International 130, 108914.

Lindsay, M. P., Tamas, L., Appels, R., & Skerritt, J. H. (2000). Direct evidence that the number and location of cysteine residues affect glutenin polymer structure. Journal of Cereal Science, 31(3): 321-333.

Liu, J., Liang, T., Xiong, S., Wang, J., Wang, Y., Yang, Y., & Zhai, Q. (2012). Effects of nitrogen fertilisation rate on the accumulation of high-molecular-weight glutenin subunits and distribution of glutenin macropolymer size in strong gluten wheat ('*Triticum aestivum*'L.). Australian Journal of Crop Science,6(12): 1624.

Liu, Ju., Zhang, J., Zhu, G., Zhu, D., Yan, Y. (2021). Effects of water deficit and high N fertilization on wheat storage protein synthesis, gluten secondary structure, and breadmaking quality. he Crop Journal,https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.04.006

Liu, L., Ikeda, T., Branlard, G., Peña, R., Rogers, J., Lerner, S., Kolman, M., Xia, X., Wang, L., Ma, W., Appels, R., Yoshida, H., Wang, A., Yan, Y., He, Z. (2010). Comparison of low molecular weight glutenin subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat. BMC Plant Biology, 10:124.

Loewy, T., Pugliese, G., & Ron, M. D. L. M. (2008). Nitrógeno y azufre para rendimiento y calidad del trigo en el SO bonaerense. In XXI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. San Luis.

Loewy, T; Ron, M. (2007). Fertilización nitro-azufrada, expresión del índice de verdor y rendimiento del nitrógeno en trigo. VII Congreso Nacional de Trigo. Santa Rosa, Argentina.

Malik, A. H; Prieto-Linde, M. L; Kuktaite, R; Andersson, A; Johansson, E. (2008). Varietal differences in protein polymer built-up of wheat at different temperature and nitrogen regimes during grain filling. In *The* 11th International Wheat Genetics Symposium proceedings Edited by Rudi Appels Russell Eastwood Evans Lagudah Peter Langridge Michael Mackay Lynne. Sydney University Press. Mar del Plata, Argentina.

Martínez Cruz, E., Espitia Rangel, Villaseñor Mir, H., Santa Rosa, R., Muñiz Reyes, E., Zamudio Colunga, A. (2017). Calidad industrial del trigo harinero en función del número de riegos. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.8 Núm.7: 1497-1508.

McIntosh, R. A., Dubcovsky, J., Rogers, W. J., Morris, C., Appels, R., Xia, X. C., Azul, B. (2013). Catalogue of gene symbols for wheat.

Meier, E. A., Hunt, J. R., Hochman, Z. (2021). Evaluation of nitrogen bank, a soil nitrogen management strategy for sustainably closing wheat yield gaps. Field Crops Research 261, 108017. doi:10.1016/j.fcr.2020.108017

Metakovsky EV, Wrigley CW, Bekes F., Gupta R.B. (1990). Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. Australian Journal of Agricultural Research 41: 289–306.

Michel, S; Löschenberger, F; Ametz, C; Pachler, B; Sparry, E; Bürstmayr, H. (2019). Theoretical and Applied Genetics (2019)Combining grain yield, protein content and protein quality by multi-trait genomic selection in bread wheat 132:2767–2780.

Ministerio de Agricultura, ganadería, pesca y alimentación: http: https://www.argentina.gob.ar/agricultura-ganaderia-y-pesca (Fecha de acceso: Marzo de 2020).

Miralles, D y Slafer, G. (2007). Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced?. Journal of Agricultural Science 145, 139–149.

Miralles, D., González, F., Abeledo, A., Serrago, R., Alzueta, I., García, G., de San Caledonio, R., Lo Valvo, P. (2014) Manual de trigo y cebada para el Cono Sur: procesos fsiológicos y bases de manejo. - 1ª ed. - Buenos Aires: Orientación Gráfca Editora. 56 p.; 16x23.

Molfese, E., Seghezzo, M., & Astiz, V. (2014) Calidad del trigo pan en el centro sur de Argentina: relevamiento de lotes de producción. Seminario internacional de trigo, INIA La Estanzuela.

Molfese, ME. (2016). Caracterización de la calidad del Trigo Pan en el centro sur bonaerense. Colección divulgación. Ediciones INTA. 978-987-521-714-0. http://hdl.handle.net/20.500.12123/3060. https://inta.gob.ar/documentos/caracterizacion-de-la-calidad-del-trigo-pan-en-el-centro-sur-bonaerense

Mortarini, M; Perelam, S; Miralles, J. (2004). Calidad industrial del trigo. Interacción G x A. VI Congreso Nacional de Trigo, Bahía Blanca.

Naeem H.A., Paulon, D., Irmak, S., MacRitchie, F. (2012). Developmental and environmental effects on the assembly of glutenin polymers and the impact on grain quality of wheat. Journal of Cereal Science 56 : 51-57.

Naeem, H.A., MacRitchie, F. (2005). Polymerization of glutenin during grain development in near-isogenic wheat lines differing at Glu-D1 and Glu-B1 in greenhouse and field. Journal of Cereal Science 41: 7–12.

Nehe, A.S; Misrab, S; Murchiea, e. H; Chinnathambia, K; Singh Tyagic, B; Foulkes, M. J. (2020). Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and protein concentration in Indian wheat cultivars. Field Crops Research 251, 107778.

Norma XX para la comercialización de trigo pan. (2004). Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentos. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/norma20-trigo-pan.pdf

Osborne, T. B. (1907). The proteins of the wheat kernel. Publication/Carnegie Institution of Washington (84).

Panozzo, J. F., Eagles, H. A., Wootton, M. (2001). Changes in protein composition during grain development in wheat. Crop and Pasture Science,52(4): 485-493.

Payne P., Lawrence, G. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheats. Cereal Research Communication (11): 29–35.

Payne, P. I., Holt, L. M., Law, C. N. (1981). Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. Theoretical and Applied Genetics 60(4): 229-236.

Payne, P.I. (1987). Genetics of wheat storage proteins and the effects of allelic variation on breadmaking quality. Annual Review of Plant Physiology 38: 141-153.

Peña, R. J. (2002). Wheat for bread and other foods. Bread Wheat. Improvement and Production. FAO Plant Production and Protection Series. Food and Agricultural Organization of the United Nations, 30.

Peña, R. J. (2014). Nuevas estrategias de mejoramiento para desarrollar variedades con mejor calidad. Seminario internacional de trigo, INIA La Estanzuela.

Ram, S., Dawar, V., Singh, R. P., & Shoran, J. (2005). Application of solvent retention capacity tests for the prediction of mixing properties of wheat flour. Journal of cereal science, 42(2), 261-266.

Rasheed, A., Xia, X., Yan, Y., Appels, R., Mahmood, T., & He, Z. (2014). Wheat seed storage proteins: Advances in molecular genetics, diversity and breeding applications. Journal of Cereal Science, 60(1): 11-24.

Resussi Calvo, N., Echeverría, H., Barbieri, P., & Rozas, H. S. (2006). Nitrógeno y azufre en trigo:¿ Rendimiento y proteína?. In XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo–Salta-Jujuy.

Reussi Calvo, N., Echeverría, H., Barbieri, P., & Rozas, H. S. (2006). Nitrógeno y azufre en trigo:¿ Rendimiento y proteína?. In XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo–Salta-Jujuy.

Reussi Calvo, N; Diovisalvi, N; Berardo, A; García, F. (2020). Del paper al lote: ¿Cuándo, cómo y por qué debería fertilizar mis trigos?. Publicaciones laboratorio FERTILAB. Abril de 2020.

Reussi Calvo, N; Echeverría, H; Barbieri, P; Sainz Rozas, H. (2006) Nitrógeno y azufre en trigo: ¿Rendimiento y proteína? XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Salta-Jujuy, 19-22 de Septiembre de 2006.

Rey Kelly, J. 2010. Comercio mundial del trigo con especial énfasis en los entes semipúblicos y privados vinculados a su comercialización.Experiencias de Canadá, Australia, EEUU, UE y Argentina. Revista de la bolsa de comercio de Rosario, pp. 36-40.

Rogers, W. J., Cogliatti, M., Lerner, S. E., Ponzio, N. R., Robutti, J. L., Di Martino, A. M., ... & Molfese, E. R. (2006). Effects of nitrogen and sulfur fertilizers on gliadin composition of several cultivars of durum wheat. Cereal chemistry 83(6), 677-683.

Rogers, W. J., Miller, T. E., Payne, P. I., Seekings, J. A., Sayers, E. J., Holt, L. M., Law, C. N. (1997). Introduction to bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and assessment for bread-making quality of alleles from T. boeoticum Boiss. ssp. thaoudar at Glu-A1 encoding two highmolecular- weight subunits of glutenin. Euphytica 93: 19-29.

Rogers, W. J., Sayers, E. J., Ru, K. L. (2001). Deficiency of individual high molecular weight glutenin subunits afford flexibility in breeding strategies for bread making quality in wheat Triticum aestivum L. Euphytica 117: 99- 109.

Rogers, W.J., Payne, P.I., Harinder, K. (1989). The HMW glutenin subunit and gliadin compositions of German-grown wheat varieties and their relationship with bread-making quality. Plant Breeding 103: 89-100.

Rogers, W.J., Payne, P.I., Seekings, J.A., Sayers, E.J. (1991). Effect on bread-making quality of x-type and y-type high-molecular-weight subunits of glutenin. Journal of Cereal Science 14: 209-221.

Rondanini, D; Borrás, L; Savin, R. (2018). Improving Grain Quality in Oil and Cereal Crops. Encyclopedia of Sustainability Science and Technology, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6_108-3.

Rossmann, A; Scherf, K; Rühl, G; Greef, J; Mühling, K. (2020). Effects of a late N fertiliser dose on storage protein composition and bread volume of two wheat varieties differing in quality. Journal of Cereal Science 93 (2020) 102944.

Ruiz, M y Giraldo, P. (2021). The influence of allelic variability of prolamins on gluten quality in durum wheat: An overview. Journal of Cereal Science 101, 103304. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103304.

Sakr, N., Rhazi, L., Aussenac, T. (2021). Bread wheat quality under limiting environmental conditions: II –Rheological properties of Lebanese wheat genotypes. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 20, 235–242.

Salomón, N., Miranda, R. (2001). Índice de calidad industrial en trigo: una herramienta para determinar la aptitud de los materiales genéticos. Estrategias y metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo. CIMMYT e INIA, Colonia Uruguay. Pág, 163-173.

Salomón, N; Tomás, L; Echeverría, H; Bergh, R; Miranda R; Seghezzo, M; Molfese, E; Ron, M. (2007). Nitrógeno y azufre en trigo. calidad industrial. X Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, 1ra. Reunión de Suelos de la Región Andina.

Seghezzo, ML (1998) La calidad como objetivo. Actas IV Congreso Nacional de Trigo, Mar del Plata, Argentina.

Seghezzo, ML y Molfese ER- 2002- Boletín Agro Radar Nº 18, Ediciones INTA.

Shewry, P. R. (2009). Wheat. Journal of experimental Botany 60 (6): 1537-1553.

Shewry, P. R., Tatham, A. S. (1997). Disulphide bonds in wheat gluten proteins. Journal of cereal science 25(3), 207-227.

Shuaib, M., Ali, Z., Ali, Waqar., Ahmad, Taufiq., Khan, I. 2007. Characterization of wheat varieties by seed storage-protein electrophoresis. African Journal of Biotecnology, 6(5): 497-500.

Singh, B; Gupta, S. (2021). Analysis of allelic variation for HMW glutenin subunits and Glu- 1 quality score data in indian wheat lines. Journal of Global Biosciences Vol. 10(1), pp. 8286-8305.

Singh, N., Shepherd, K., Cornish, G. (1991). A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. Journal of Cereal Science 14:203-208.

Skerritt, J. H. (1998). Gluten proteins: genetics, structure and dough quality - a review. AgBiotechNews and Information 10 (8): 247- 270.

Slafer, G., Miralles, D., Savin, R., Whiterchuch, E., González, E. (2004). Ciclo ontogénico, dinámica del Desarrollo y generación del rendimiento y la calidad de trigo. Pascale, A. (Ed). *Producción de granos, bases funcionales parar su manejo*. Páginas 101-134.

Slafer, G; Elia, M; Savin, R; García, G; Terrile, I; Ferrante, A; Miralles, D; González; F. (2015). Fruiting effi ciency: an alternative trait to further rise wheat yield. Food and Energy Security 2015; 4(2): 92–109.

Southan, M., MacRitchie, F. (1999). Review: Molecular Weight Distribution of Wheat Proteins. Cereal Chemistry 76(6):827–836.

Stankowsky, S; Podolska, G; Kaczmarek, S; Jaroszewska, A; Hury, G; Sobolewska, M. (2019) Influence of sulphur fertilization on yielding and chemical composition of grain of spring wheat (Triticum aestivum L.) grown in diferente hábitat conditions. Journal of Elementology 24(3): 1007-1023.

Stone, P. J., and Nicolas, M. E. (1994). Wheat cultivars vary widely in their responses of grain yield and quality to short periods of postanthesis heat stress. Australian Journal of Plant Physiology 21: 887–900.

Sulek, A; Cacak-Pietrzak, G; Wyzińska, M; Nieróbca, A. (2019). Influence of Nitrogen Fertilization on the Yields and Grain Quality of Winter Wheat under Different Environmental Conditions. World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering Vol:13, No:5.

Tabak, M., Lepiarczyk, A., Filipek-Mazur, B., Lisowska, A. (2020). Efficiency of Nitrogen Fertilization of Winter Wheat Depending on Sulfur Fertilization. Agronomy 10, 1304, doi:10.3390/agronomy10091304.

Tabasum, A; Iqbal, N; Ameed, A; Arshad, R. (2011). Evaluation of Pakistani wheat germplasm for bread quality based on allelic variation in HMW glutenin subunits. Pak. J. Bot. 43(3): 1735-1740, 2011.

Tao, Z; Chang, X; Wang, D; Wang, Y; Ma, S; Yang, Y; Zhao, G. (2018). Effects of sulfur fertilization and short-term high temperature on wheat grain production and wheat flour proteins. The crop journal 6 (2018) 413 – 425.

Toth, B; van Biljon, A; Labuschagne, M. (2020). Influence of low soil nitrogen and phosphorus on gluten polymeric and monomeric protein distribution in two high quality spring wheat cultivars. Journal of Cereal Science 91 (2020) 102867.

Toth, B., van Biljon, A., Moloi, M. J., Labuschagne, M. (2019). Effects of different fertilization levels on the concentration of high molecular weight glutenin subunits of two spring, hard red bread wheat cultivars. Cereal Chemistry 96(6), pp. 1004-1010.

Triboi, E., Martre, P., Triboi-Blondel, A. (2003). Environmentally- induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. Journal of experimental botany 54 (388): 1731- 1742.

Valdés, C., Estrada-Campuzano, G., Martinez Rueda, C. G., Domínguez López, A., Solis-Moya, E., Villanueva Carvajal, A. (2020). Grain and Flour Wheat Quality Modified by Genotype, Availability of Nitrogen, and Growing Season. International Journal of Agronomy.

Varga, B; Svecnjak, Z. 2006. The effect of late-season urea spraying on grain yield and quality of winter wheat cultivars under low and high basal nitrogen fertilization. Field Crops Research 96: 125-132.

Vawser, M. J., Cornish, G. B. (2004). Over-expression of HMW glutenin subunit Glu-B1 7x in hexaploid wheat varieties (*Triticum aestivum*). Australian Journal of Agricultural Research 55(5): 577-588.

Vazquez, D; Berger, A; Luisa Prieto-Linde, M; Johansson. (2019). Journal of Cereal Science (2019). Can nitrogen fertilization be used to modulate yield, protein content and bread-making quality in Uruguayan wheat?, doi: https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.12.001.

Ventimiglia, L; Torrens Vaudrix, L. (2015). Trigo: fertilización foliar complementaria con urea. Efecto de la dilución, momento, dosis de aplicación y mezcla con fungicida. INTA Pergamino.

Verges, R; Vázquez, D; Ibáñez, W. (2006). Trigos INIA: ¿Se puede reunir buena calidad y alto rendimiento en un mismo cultivar?. Jornada de Cultivos de Invierno "Trigo: Calidad vs. Rendimiento" INIA La Estanzuela.

Wang, L. H., Zhao, X. L., He, Z. H., Ma., W., Appels., R., Peña., R. J., Xia., X. C. (2009). Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit Glu-B3 genes and development of STS markers in commonm wheat (Triticum aestivum L.). Theoretical and Applied Genetics 118: 525-539.

Wang, P; Jin, Z; Xu, X. (2015). Physicochemical alterations of wheat gluten proteins upon dough formation and frozen storage e A review from gluten, glutenin and gliadin perspectives P. Trends in Food Science & Technology 46 (2015) 189-198.

Wieser, H. (2007). Chemistry of glutein proteins. Food Microbiology 24:115-119.

Wrigley, C. W., Du Cros, D. L., Fullington, J. G., & Kasarda, D. D. (1984). Changes in polypeptide composition and grain quality due to sulfur deficiency in wheat. Journal of cereal science 2(1): 15-24.

Xue, C., Schulte auf 'm Erley, G., Rossmann, A., Schuster, R., Koehler, P., Mühling, K.-H. (2016). Split nitrogen application improves wheat baking quality by influencing protein composition rather than concentration. Front. Plant Sci. 7, 1–11. https://doi. org/10.3389/fpls.2016.00738

Yu, A., Dragovich, N., Fisenko, A., Yankovsky, N., Kudryavtsev, A., Yang, Q., Lu, Z., Wang, D. (2011). Genetic diversity of storage protein genes in common wheat (Triticum aestivum L.) cultivars from China and its comparison with genetic diversity of cultivars from other countries. Genetic Resources and Crop Evolution 58:533–543.

Yu, Z., She, M., Zheng, T., Diepeveen1, D., Islam, S., Zhao, Y., Zhang, Y., Tang, G., Y, Zhang, Zhang, J., Blanchard, C., Ma, W. (2021). Impact and mechanism of sulphur-deficiency on modern wheat farming nitrogen-related sustainability and gliadin content. Commun Biol 4, 945. https://doi.org/10.1038/s42003-021-02458-7.

Yue, H., Jiang, D., Dai, T., Qin, X., Jing, Q., Cao, W. (2007). Effect of nitrogen application rate on content of glutenin macropolymer and high molecular weight glutenin subunits in grains of two winter wheat cultivars. Journal of cereal science 45(3): 248-256.

Zadoks, J. C. ; Chang, T. T. ; Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Research Vol.14 No.6 pp.415-421 ref.15.

Zhang, Y., Dai, X., Jia, D., Li, H., Wang, Y., Li, C., He, M. (2016). Effects of plant density on grain yield, protein size distribution, and breadmaking quality of winter wheat grown under two nitrogen fertilisation rates. European Journal of Agronomy 73: 1-10.

Zhao, F. J., Hawkesford, M. J., & McGrath, S. P. (1999). Sulphur assimilation and effects on yield and quality of wheat. Journal of Cereal Science 30(1): 1-17.

Zhao, J; Zheng , X; Qiao , L; Ge , C; Wu , B; Zhang , S; Qiao , L; Feng , Z; Zheng, J. (2020). Effects of HMW-GSs on quality related traits in wheat (Triticum aestivum L.) under different water regimes. PLoS ONE 15(8): e0237711. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237711.

Zhen, S; Denga, X; Xud, X; Liu, N; Zhu, D; Wang, Z; Yan, Y. (2020). Effect of high-nitrogen fertilizer on gliadin and glutenin subproteomes during kernel development in wheat (Triticum aestivum L.). The Crop Journal 18 ( 2 0 2 0 ) 3 8 – 5 2.

Zhenga, B; Fanga, Q; Zhanga, C; Mahmooda, C; Zhoua, Q; Lib, W; Lic, X; caía, J; Wanga, X; Zhonga, J; Huanga, M; Caoa, W; Daia, T; Jianga, D. (2020). Reducing nitrogen rate and increasing plant density benefit processing quality by modifying the spatial distribution of protein bodies and gluten proteins in endosperm of a soft wheat cultivar. Field Crops Research 253, 107831.

Zhu, J., Khan, K. (2002). Quantitative Variation of HMW Glutenin Subunits from Hard Red Spring Wheats Grown in Different Environments. Cereal chemistry 9(6), 783-786.

Zorb, C; Ludewig, U; 2 and Malcolm J. Hawkesford, (2018) Perspective on Wheat Yield and Quality with Reduced Nitrogen Supply. Trends in plant science 23(11), 1029-1037.