

Relación entre eficiencia de uso del nitrógeno y calidad industrial en variedades argentinas de Trigo Pan (*Triticum Aestivum* L.) con distinta composición de gluten

LERNER, S.E.; ARATA, A.F.¹; ARRIGONI, A.C.¹

RESUMEN

El uso eficiente del nitrógeno en los cultivos permite minimizar los riesgos ambientales y maximizar los ingresos de los productores. Esto se puede lograr ajustando el manejo de la fertilización y utilizando la variabilidad genética existente. Además de su efecto sobre el rendimiento, el N ejerce un importante efecto sobre la calidad de los granos de trigo. Esto último también es influenciado por la composición proteica del gluten y el ambiente. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la relación entre la eficiencia de captura de N y su partición entre grano y rastrojo con atributos de calidad industrial en variedades argentinas de trigo pan de distinto ciclo y con diferente composición alélica de gliadinas y gluteninas. Los ensayos se realizaron durante la campaña 2011/12 en Azul, Buenos Aires (Argentina) incluyendo 27 variedades argentinas de trigo pan de distinto ciclo. Los tratamientos fueron testigo (T) y fertilizado (F) con aplicación repartida de urea para alcanzar 210 kg N/ha. Se determinaron rendimiento y sus componentes, se calcularon parámetros de eficiencia de uso de N y se realizaron mediciones de parámetros alveográficos, volumen de sedimentación, contenido de proteínas y de gluten húmedo en grano y contenido de N en rastrojo. El patrón proteico de cada variedad se identificó mediante geles de poliacrilamida. El genotipo resultó la principal fuente de variación para las eficiencias de recuperación de N total, en grano y en rastrojo. El índice de cosecha de N disminuyó de 0,81 en los tratamientos testigo a 0,73 en los fertilizados en promedio, existiendo interacción variedad*tratamiento. El contenido de proteínas en los granos y la extensibilidad de las masas fueron altamente dependientes del nivel de N en tanto que la fuerza panadera lo fue del genotipo. La capacidad de particionar N a grano explicó la relación existente entre extensibilidad y eficiencia de recuperación de N. La valoración de alelos de gluteninas de alto peso molecular no coincidió estrictamente con el Grupo de Calidad de la variedad evidenciando la influencia de otras fracciones proteicas y su interacción con el ambiente. La expresión del potencial genético atribuido a la composición alélica del gluten podría estar regulada en parte por atributos de eficiencia de uso de N.

Palabras clave: recuperación de nitrógeno, calidad de uso final, gluteninas, gliadinas.

ABSTRACT

The efficient use of nitrogen in crops can minimize environmental risks and maximize returns to farmers. This can be achieved by adjusting the fertilization management and/or using the genetic variability. In addition to

¹Departamento de Producción Vegetal, Cereales y Oleaginosas, Laboratorio de Valoración de Calidad Industrial de Trigo, Facultad de Agronomía, UNCPBA. Rep. de Italia 780, 7300, Azul, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: arataa@faa.unicen.edu.ar

its effect on yield, N has a significant effect on the quality of wheat grains. The latter is also influenced by the gluten protein composition and the environment. The aim of this work was to study the relationship between N recovery efficiency and its partitioning between grain and stover with industrial quality attributes in Argentinean bread wheat varieties of different cycle and with different allelic composition of gliadins and glutenins. In the current work, field trials of 27 Argentinean bread wheat varieties of different cycle were carried out during 2011/12 season, in Azul, Province of Buenos Aires, Argentina. The fertilizer treatments were: control treatment (T) and fertilized treatment (F) with split application of urea at variable rates to reach 210 kg N/ha. The following characteristics were determined: grain yield and its components, parameters of N use efficiency, alveographic parameters, sedimentation volume, protein content, wet gluten content and N stover content. The protein pattern of each variety was identified by polyacrylamide gels. The genotype was the main source of variation for total recovery efficiency, grain recovery efficiency and stover recovery efficiency. The N harvest index decreased from 0.81 in control to 0.73 in fertilized treatments on average, and variety*treatment interaction was significant. The protein content in grains and the dough extensibility were highly dependent on the level of N while the baking strength it was of the genotype. The ability to partition N to grain explained the relationship between the extensibility and the N recovery efficiency. The assessment of high molecular weight glutenin alleles was not strictly coincided with Quality Group of the variety showing the influence of other protein fractions and their interaction with the environment. The expression of the genetic potential attributed to the allelic composition of gluten may be regulated in part by N use efficiency attributes.

Keywords: nitrogen recovery, end use quality, glutenins, gliadins.

INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) es uno de los principales insumos en el cultivo de cereales y se ha convertido en un importante factor de contaminación agrícola por medio de la lixiviación y la escorrentía de fertilizantes. Por lo tanto, un uso más eficiente del N en la producción representa un reto actual para la investigación agronómica, y especialmente para los programas de mejoramiento de plantas, con el objetivo de minimizar los riesgos ambientales y maximizar los ingresos de los productores (Muurinen *et al.*, 2006).

La respuesta a la fertilización en distintas situaciones de producción es notablemente afectada por diferencias genéticas en cuanto a rendimiento potencial y capacidad de absorción y retranslocación del N a órganos cosechables (Van Sanford y MacKown, 1987). La longitud del ciclo de la variedad es otro factor de variación importante (Rostami y O'Brien, 1996). El genotipo y el nivel de N afectan la eficiencia de uso del nutriente en términos de rendimiento y del N capturado por el cultivo (Barracough *et al.*, 2010), así como sobre la eficiencia de recuperación en grano del fertilizante aplicado (Guarda *et al.*, 2004).

Hay dos formas de incrementar la eficiencia de uso de N (EUN) en los cultivos de trigo, ajustando el manejo de la fertilización o logrando mejores variedades. La eficiencia de fertilización se puede incrementar con labores y rotaciones de cultivos que inciden sobre el nivel de N del suelo y aplicaciones de fertilizante ajustadas a la demanda del cultivo, teniendo en cuenta el rendimiento alcanzable y el clima. La otra manera de mejorar la EUN es desarrollar variedades capaces de recuperar más N de los suelos y los fertilizantes y utilizarlo para generar más grano (Barracough

et al., 2010). Cabe aclarar que el N capturado no translocado a granos vuelve al sistema por el proceso de mineralización, quedando disponible en mayor o menor grado para el cultivo siguiente. Si bien esto último no genera un resultado productivo directo, contribuye a mejorar la sustentabilidad.

Además de su efecto sobre el rendimiento, el N capturado y translocado a los granos ejerce un importante efecto sobre la cantidad de proteínas en los granos y otros parámetros de calidad. El contenido de proteínas en grano, asociado fuertemente con el contenido de gluten, es parcialmente determinante de la calidad industrial (Labuschagne *et al.*, 2006; Alzueta *et al.* 2008; Pinilla Quezada *et al.*, 2008). Por su parte, las clases de proteínas que forman gluten (gliadinas y gluteninas) son características de cada variedad y confieren propiedades específicas relacionadas con su uso final.

Se han encontrado efectos del N sobre los parámetros reológicos de la masa, como los obtenidos con el Alveógrafo de Chopin: fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad de la masa (L) (Alzueta *et al.*, 2008; Fuertes-Mendizábal *et al.*, 2010, 2012). La extensibilidad de las masas (L) es el parámetro alveográfico más influenciado por la disponibilidad de N (Park *et al.*, 2006), por lo que genotipos estables en eficiencia de recuperación de N en grano y eficiencia agronómica presentan menor variación en los valores de dicho parámetro aún entre años con diferente distribución de precipitaciones (Lerner *et al.*, 2013). Sin embargo, poco se conoce sobre la relación de la calidad industrial de las harinas y los determinantes de la recuperación de N en grano: captura y partición.

Genes localizados en cromosomas de los grupos 1 al 6 controlan la codificación de las proteínas del gluten. Los

loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1* codifican subunidades de gluteninas de alto peso molecular (GAPM). Payne *et al.* (1987) observaron que las subunidades de GAPM estaban directamente asociadas con la fuerza del gluten y analizando numerosas variedades de trigo pan establecieron un índice llamado "Score *Glu-1*", asignándole un valor de calidad a cada variedad, desde 3 hasta 10, según la composición de subunidades de estas proteínas. Para la construcción de dicha clasificación se utilizó el test de sedimentación (SDSS) (Axford, 1979) que estima la fuerza del gluten, muy importante para determinar el uso final de las harinas (Peña, 2002; Cornish *et al.*, 2006).

Las gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) son controladas por genes de los loci *Glu-A3*, *Glu-B3* y *Glu-D3*, ubicados en los brazos cortos de los cromosomas 1AS, 1BS y 1DS, cerca de los genes que codifican ciertas gliadinas (γ - y ω -gliadinas), por lo que en parte, se heredan en forma conjunta (Metakovsky *et al.*, 1990). En principio, se diferencian dos amplios grupos de gliadinas, las semejantes a la variedad Chinese Spring (CSS) y las semejantes a la variedad Cheyenne (CNN). Este último confiere mejores propiedades reológicas a las harinas.

Por otro lado, la sustitución del brazo corto del cromosoma 1B del trigo por el brazo corto del cromosoma 1R del centeno (translocación 1B/1R) tiene un impacto negativo en la calidad panadera del trigo debido a la pérdida de un grupo de GBPM y gliadinas (ω -gliadinas), que es reemplazado por secalinas (Martín y Carrillo, 1999). Esto último ha

sido corregido en el mencionado Score. Otro factor que puede afectar la relación entre los diferentes grupos proteicos es la presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7 (GAPM), que solo se asocia a la subunidad 8 (Marchylo *et al.*, 1992) y que mejora la calidad.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la relación entre la eficiencia de captura de N y su partición entre grano y rastrojo con atributos de calidad industrial en variedades argentinas de trigo pan de distinto ciclo y con diferente composición alélica de gliadinas y gluteninas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimentos a campo

Los ensayos se llevaron a cabo durante la campaña 2011/12 en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires, Azul, Buenos Aires (36° 49' 53" latitud Sur, 59° 53' 23" longitud Oeste). Se incluyeron 27 variedades argentinas de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) de ciclo largo (CL): ACA 201 y 304, BIOINTA 2005, Buck Baqueano, Malevo, 55 CL2, SY 100 y SY 200, Klein Carpincho, Gladiador y Yará, Relmó INIA Torcaza; y de ciclo corto (CC): ACA 801, BIOINTA 1003, Buck AGP Fast, Meteoro y SY 300, Don Mario Atlax y Arex, Klein León, Nutria, Proteo y Rayo, Santa Rosa BAT 102, 111 y 112 (experimentales), Sursem SRM 2331. Las fechas de siembra fueron 5 de Julio y 8 de agosto de 2011 y las densidades obje-

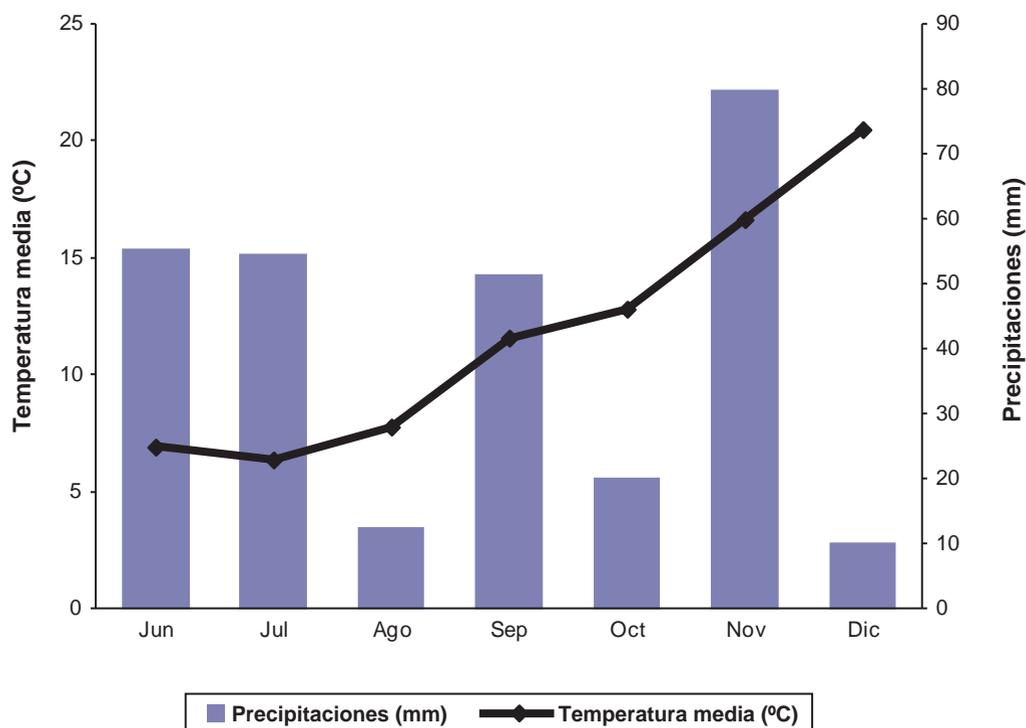


Figura 1. Temperaturas medias (°C) y precipitaciones (mm) durante el ciclo del cultivo (Centro Regional de Agrometeorología FA-UNCPBA, 2011).

Elaborada para la presente edición.

tivo 400 y 450 plantas/m² para los primeros y los segundos respectivamente. Se trabajó con dos niveles de nitrógeno (N): testigo (T), que correspondió a fertilización de base en emergencia con una dosis de urea equivalente a 50 kg/ha de fosfato diamónico (9 kg N/ha) y fertilizado (F), con aplicación repartida de urea, 40% a la emergencia y 60% a fin de macollaje, en dosis variable de acuerdo al análisis del suelo a la siembra, para lograr 210 kg/ha de N totales (210 kg N/ha - N del suelo) que corresponden a los requerimientos de N para un rendimiento objetivo de 7 t/ha. Se aplicó superfosfato triple en presiembra para asegurar no-deficiencia de fósforo y se controlaron plagas, enfermedades y malezas cuando correspondió.

Régimen de precipitaciones y temperatura

En la fig. 1 se presenta el registro de lluvias y temperaturas medias mensuales para la campaña analizada (Centro Regional de Agrometeorología FA-UNCPBA, 2011). Durante el ciclo del cultivo las precipitaciones acumuladas fueron de 229,3 mm para los ciclos largos y de 174,6 mm para los ciclos cortos. Cabe destacar que en el mes de noviembre se concentró un total de 79,9 mm.

Mediciones y cálculos en el cultivo

A cosecha, sobre una subparcela de 1 m² se determinaron materia seca total (MST), rendimiento en grano (RGR), materia seca de rastrojo (MSR), peso de granos (P1000), se calcularon número de granos (NG), índice de cosecha (IC) y número de espigas (Nesp), se midieron porcentaje de proteínas en grano (%Pro) (NIR) y porcentaje de N en rastrojo (%NR) (Micro-Kjeldahl) y se calcularon N absorbido total (NabsT), N absorbido en grano (NabsG), N absorbido en rastrojo (NabsR) e índice de cosecha de N (ICN=NabsG/NabsT). Se calcularon las eficiencias de recuperación de N total (ERT), en grano (ERG) y en rastrojo (ERR) a partir del porcentaje calculado de N en grano (N=Proteína/5,75) (%NG) y del porcentaje de N en rastrojo, según las siguientes fórmulas derivadas de Guarda *et al.* (2004):

- Eficiencia de recuperación de N total (%) = $\frac{\{[N_{\text{grano+rastrojo trat. N}} \text{ (kg/ha)} - N_{\text{grano+rastrojo trat. T}} \text{ (kg/ha)}]\} / N_{\text{aplicado}} \text{ (kg/ha)}}{N_{\text{aplicado}} \text{ (kg/ha)}} \times 100$
- Eficiencia de recuperación de N en grano (%) = $\frac{\{[N_{\text{grano trat. N}} \text{ (kg/ha)} - N_{\text{grano trat. T}} \text{ (kg/ha)}]\} / N_{\text{aplicado}} \text{ (kg/ha)}}{N_{\text{aplicado}} \text{ (kg/ha)}} \times 100$
- Eficiencia de recuperación de N en rastrojo (%) = $\frac{\{[N_{\text{rastrojo trat. N}} \text{ (kg/ha)} - N_{\text{rastrojo trat. T}} \text{ (kg/ha)}]\} / N_{\text{aplicado}} \text{ (kg/ha)}}{N_{\text{aplicado}} \text{ (kg/ha)}} \times 100$

Evaluación de calidad

Con la harina obtenida previa molienda de los granos cosechados se obtuvieron parámetros reológicos de calidad industrial: fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y relación P/L, con Alveógrafo de Chopin (AACC

International, 1999). Sobre muestras de harina integral se realizó el test de sedimentación en docecil sulfato de sodio (SDSS) (Dick y Quick, 1983). Se clasificaron las variedades según su grupo de calidad (INASE, 2014).

Identificación del patrón proteico

Se realizó electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE, unidimensionales, T=13,5%), con extracción secuencial de gliadinas y gluteninas según Gupta y Mc Ritchie (1991). Se calificó la calidad de los distintas variedades según el Score *Glu-1* (Payne, 1987), que tiene en cuenta la composición de GAPM y la corrección por translocación 1B/1R. A su vez, se numeraron los patrones de GBPM por similitud de movilidad electroforética, se determinó el tipo de gliadinas, la presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7 y de translocación 1B/1R.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue en tres bloques completos al azar con parcela dividida. Se utilizaron macro-parcelas de 13,3 m², aleatorizando los variedades en las parcelas principales y los tratamientos de fertilización en las parcelas secundarias. Los resultados se analizaron mediante Análisis de la Varianza (ANOVA) y comparación de medias por test de Duncan ($\alpha \leq 0,05$), y Análisis de Componentes Principales (ACP) utilizando el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2014). Para cada atributo estudiado mediante ANOVA se calculó el porcentaje de suma de cuadrados de cada fuente de variación respecto a la suma de cuadrados del modelo (%SC), con el objetivo de estimar la contribución de cada factor sobre la variabilidad de estos atributos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento y componentes

Las variables MST, RGR, MSR, IC y Nesp difirieron significativamente entre variedades y tratamientos (tabla 1). En relación con esto, Lerner *et al.* (2013) reportaron similares efectos de la variedad y el tratamiento de fertilización nitrogenada sobre RGR, aunque su interacción fue significativa. Por otro lado, la interacción variedad*N resultó significativa para las variables %NG, %NR, NabsT, NabsG y NabsR, aunque el valor de %SC fue reducido en todos los casos (tabla 2). Esto indica que las diferencias genotípicas en la captura de N y su partición hacia grano dependieron de la disponibilidad del nutriente para el cultivo. Contrariamente, Le Gouis *et al.* (2000), en experimentos conducidos en Francia, encontraron que la interacción variedad*N resultó no significativa para %NG, aunque sí lo fue para el rendimiento y sus componentes. El efecto principal del tratamiento de fertilización sobre NabsG se debió a respuestas tanto en RGR como en %NG. Del mismo modo, la respuesta promedio en NabsR se correspondió con variaciones en MSR y %NR, determinando mayores valores de NabsT (tabla 3).

FV	MST		RGR		MSR		IC		Nesp	
	%SC	p-valor								
Ciclo	15	***	21,5	***	8,53	***	3,85	**	6,57	**
Variedad	37,9	***	40,4	***	41	***	50	**	38,4	**
Nitrógeno (N)	19,1	***	11,9	***	18,2	***	1,88	*	8,32	**
Ciclo*N	0,85	*	0,51	ns	0,83	*	0,28	ns	0	ns
Variedad*N	5,37	ns	4,77	ns	6,96	ns	11,5	ns	14,5	ns

Tabla 1. Porcentaje de suma de cuadrados (%SC) y p-valor de las fuentes de variación (FV) consideradas para materia seca total (MST), rendimiento en grano (RGR), materia seca de rastrojo (MSR), índice de cosecha (IC) y número de espigas por m² (Nesp).

* p-valor<0,05; ** p-valor<0,01; *** p-valor<0,0001.

Elaborada para la presente edición.

FV	%NG		%NR		NabsT		NabsG		NabsR		ICN	
	%SC	p-valor	%SC	p-valor	%SC	p-valor	%SC	p-valor	%SC	p-valor	%SC	p-valor
Ciclo	0,6	*	0,9	**	12,2	***	15,3	***	4,9	***	0,0	ns
Variedad	26,4	***	15,9	**	12,7	**	20,4	***	13,2	*	32,4	***
Nitrógeno (N)	55,7	***	63,4	***	56,5	***	44,1	***	57,9	***	39,7	***
Ciclo*N	1,1	**	0,1	ns	0,4	*	0,1	ns	1,4	**	0,6	*
Variedad*N	6,3	**	6,2	**	5,6	**	6,6	*	6,1	*	7,4	*

Tabla 2. Porcentaje de suma de cuadrados (%SC) y p-valor de las fuentes de variación (FV) consideradas para porcentaje de nitrógeno en grano (%NG), porcentaje de nitrógeno en rastrojo (%NR), nitrógeno absorbido total (NabsT), nitrógeno absorbido en grano (NabsG), nitrógeno absorbido en rastrojo (NabsR) e índice de cosecha de nitrógeno (ICN).

* p-valor<0,05; ** p-valor<0,01; *** p-valor<0,0001. Las variables expresadas en porcentaje fueron transformadas ($\sqrt{\quad}$) para su análisis. Elaborada para la presente edición.

Trat	MST	RGR	MSR	IC	Nesp	%NG	%NR	NabsT	NabsG	NabsR
	kg/ha	kg/ha	kg/ha		esp/m ²	%	%	kg/ha	kg/ha	kg/ha
CL F	15362 a	5614 a	9748 a	0,37 b	604 b	2,29 a	0,51 a	178 a	128 a	49 a
CC F	13086 b	4629 b	8457 b	0,35 b	658 a	2,32 a	0,46 b	146 b	107 b	38 b
CL T	12807 b	4836 b	7971 b	0,38 a	543 c	1,93 b	0,26 c	115 c	93 c	21 c
CC T	11407 c	4114 c	7293 c	0,36 b	598 b	1,82 c	0,24 c	93 d	75 d	18 d

Tabla 3. Medias de materia seca total (MST, kg/ha), rendimiento en grano (RGR, kg/ha), materia seca de rastrojo (MSR, kg/ha), índice de cosecha (IC), número de espigas por m² (Nesp, esp/m²), porcentaje de nitrógeno en grano (%NG), porcentaje de nitrógeno en rastrojo (%NR), nitrógeno absorbido total (NabsT, kg/ha), nitrógeno absorbido en grano (NabsG, kg/ha) y nitrógeno absorbido en rastrojo (NabsR, kg/ha) para las combinaciones de ciclos largos (CL) y cortos (CC) y los tratamientos testigo (T) y fertilizado (N). Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Duncan, $\alpha=0,05$). Las variables expresadas en porcentaje fueron transformadas ($\sqrt{\quad}$) para su análisis.

Elaborada para la presente edición.

Se observaron diferencias significativas entre ciclos para MST, RGR, MSR, IC, Nesp, %NG, %NR, NabsT, NabsG y NabsR (tablas 1 y 2). El efecto de dicho factor a favor de las variedades de ciclo largo sobre NabsG se debió a respuestas en RGR y en %NG (tabla 3). La interacción ciclo*N fue significativa para MST, MSR, %NG, NabsT y NabsR (tablas 1 y 2). Al respecto, se observó mayor respuesta a la fertilización en %NG para las variedades de ciclo corto, en tanto que para NabsR se encontró una mayor respuesta al agregado de N en las de ciclo largo, probablemente

debido a la mayor duración de la etapa de acumulación de biomasa (tabla 3).

Eficiencia de uso de nitrógeno

Se encontraron diferencias significativas entre variedades en las eficiencias de recuperación de N total (ERT), en grano (ERG) y en rastrojo (ERR) (tabla 4 y fig. 2). El genotipo resultó ser una fuente de variación importante para las eficiencias de recuperación, al igual que lo reportado por

FV	ERT		ERG		ERR	
	%SC	p-valor	%SC	p-valor	%SC	p-valor
Ciclo	14,9	**	4,59	ns	21,8	***
Variedad	79,1	**	81,9	*	70,8	**

Tabla 4. Porcentaje de suma de cuadrados (%SC) y p-valor de las fuentes de variación (FV) consideradas para las Eficiencias de recuperación total (ERT), en grano (ERG) y en rastrojo (ERR).

* p-valor<0,05; ** p-valor<0,01; *** p-valor<0,0001. Elaborada para la presente edición.

Guarda *et al.* (2004). Por otro lado, la figura 2 muestra que el comportamiento de las distintas variedades en ERG no coincidió estrictamente con lo observado en ERR y por lo tanto en ERT. Esto puede ser explicado en parte por la variabilidad genotípica encontrada en índice de cosecha de N (ICN) (tabla 2 y fig. 3), lo cual determina distintos patrones de partición de N dentro de la planta, en forma similar a lo encontrado por Barraclough *et al.* (2010).

Las variedades de ciclo largo presentaron valores de ERT (CL=43,30 a; CC=33,55 b) y ERR (CL=19,33 a; CC=13,04

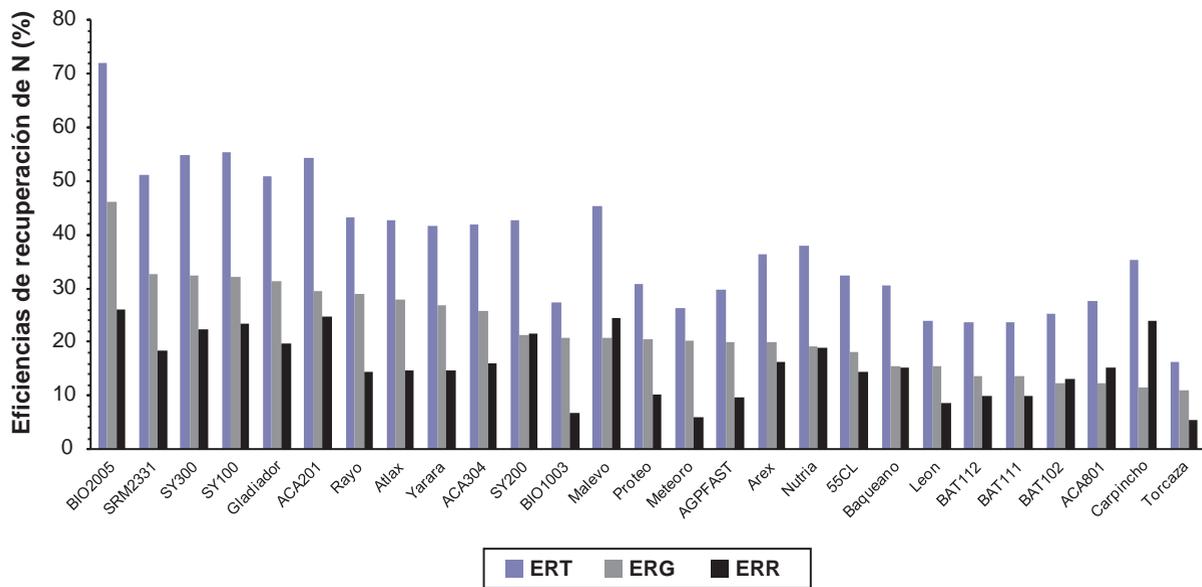


Figura 2. Eficiencias de recuperación total (ERT, %), en grano (ERG, %) y en rastrojo (ERR, %) de los variedades analizadas.

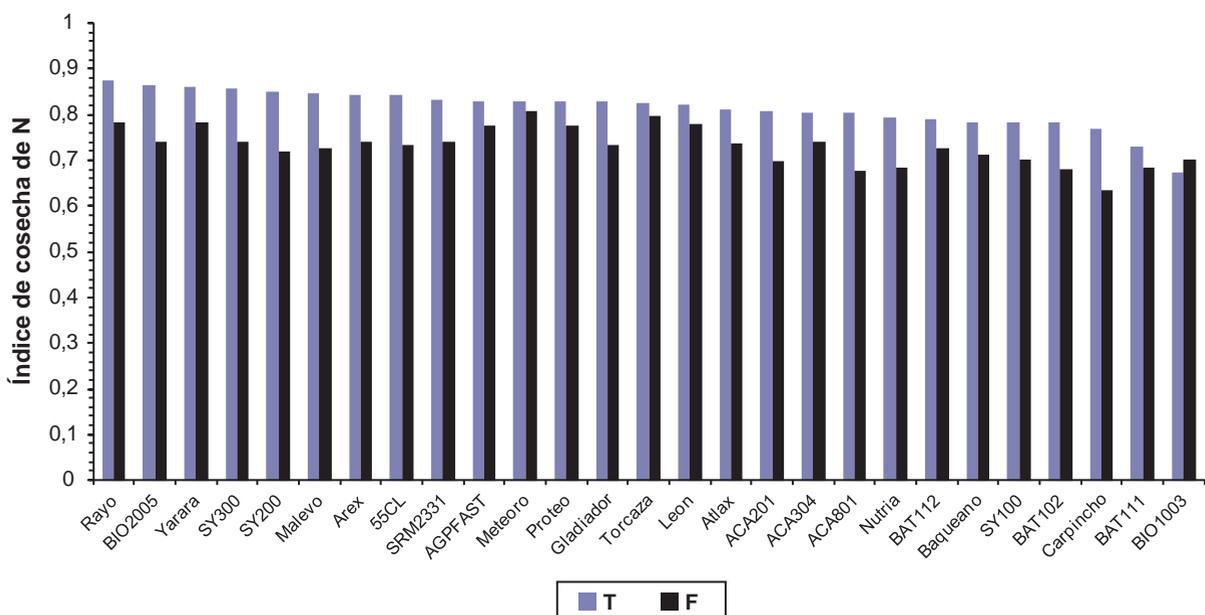


Figura 3. Índice de cosecha de nitrógeno (ICN) de las variedades analizadas para los tratamientos testigo (T) y fertilizado (F). Elaborada para la presente edición.

b) significativamente mayores que las de ciclo corto, no difiriendo en ERG (CL=23,97 a; CC=20,51 a). Por lo tanto, las diferencias encontradas entre ciclos en la captura de N se reflejaron en cambios en la capacidad de alojar N en el rastrojo más que en los granos. Esto puede deberse en parte a las diferentes dosis aplicadas a los distintos ciclos, las cuales intervienen en el cálculo de ERR, debido a la variación en la disponibilidad de N en el suelo al momento de la siembra.

Se observaron diferencias significativas entre variedades y entre tratamientos en ICN, pero no entre ciclos (tabla 2 y fig. 3). Los tratamientos fertilizados presentaron en promedio menores valores de dicha variable que los testigos (T=0,81 a; N=0,73 b). Esto evidencia una limitación en la capacidad de retranslocación de N a destinos cosechables en presencia de altas dosis de fertilizante, lo cual concuerda con Le Gouis *et al.* (2000). Las interacciones ciclo*N y variedad*N fueron significativas, aunque con %SC reducidos. Sin embargo, vale mencionar algunas variedades que no respondieron a la generalidad, como BIO1003, AGPFAST, Meteoro, León, Proteo, Torcaza, BAT111 y BAT112, las cuales fueron estables en ICN entre tratamientos de fertilización.

Calidad industrial

El porcentaje de proteínas en los granos (%Pro), que es un parámetro de calidad comercial relacionado en parte con el uso industrial, presentó efectos significativos del ciclo, la variedad y el nivel de N, existiendo interacción significativa ciclo*N y variedad*N. Las fuentes de variación más importantes fueron la fertilización y el genotipo, explicando un 55,8% y 26,7% de la variabilidad, respectivamente; mientras que los %SC del ciclo y las interacciones fueron reducidos (tabla 5).

La fuerza panadera (W), principal atributo de calidad industrial, exhibió diferencias significativas entre ciclos, variedades y niveles de N, siendo significativa la interacción variedad*N. Pero en este caso, el genotipo, claramente asociado con la composición proteica del gluten, resultó la fuente de variación preponderante seguido por la fertiliza-

ción. En cuanto a los determinantes del W, la variabilidad en tenacidad (P) fue explicada en mayor medida por la variedad seguida de la interacción variedad*N, en tanto que la extensibilidad (L) presentó una mayor influencia de la fertilización nitrogenada en ambos ciclos, lo cual coincide con lo reportado por Miceli *et al.* (1992) y Park *et al.* (2006). Si bien se detectaron interacciones significativas entre factores para las variables %Pro, W y L, el %SC de estas fue reducido, por lo cual la discusión de los resultados se enfocó en los efectos principales (tabla 5). Con respecto a la interacción variedad*N para P, el 74% de los genotipos (20 variedades) fueron estables entre niveles de N, mientras que el 22% (CL: Malevo, 55 CL, Yará, Torcaza; CC: Proteo, Rayo) presentó una respuesta negativa a la fertilización y el 4% positiva (CC: SRM2331) (datos no mostrados).

El volumen de sedimentación (SDSS) fue escasamente afectado por el ambiente (ciclo y N) y determinado en mayor proporción por la variedad, siendo un excelente método para valorar calidad intrínseca (tabla 5), en acuerdo con lo informado por Axford *et al.* (1979), Dick y Quick (1983), Carrillo *et al.* (1990) y Lerner y Ponzio (2004).

El ACP que incluyó parámetros de calidad industrial y determinantes de la eficiencia de uso de N (fig. 4) indicó que la componente principal 1 (CP1) quedó conformada por las variables P (+), W (+), SDSS (+), ERT (+) y NabsT (+) explicando el 31,4% de la variabilidad observada, y la componente principal 2 (CP2) por L (+), ICN (+) y %Pro (+) explicando otro 28,9% de la variabilidad. No se observó la formación de grupos de acuerdo al ciclo de la variedad por lo que dicho factor no presentó capacidad discriminadora para las variables estudiadas. Teniendo en cuenta las variables asociadas al CP1, el parámetro alveográfico W y el volumen de sedimentación presentaron elevada correlación entre sí, siendo mayormente determinados por la capacidad de capturar N por parte del cultivo (NabsT). De acuerdo al CP2, la extensibilidad (L) se asoció fuertemente al %Pro coincidiendo con lo observado por Godfrey *et al.* (2010) y fue determinada por el ICN. Esto último evidencia que la relación entre la extensibilidad y la eficiencia de recuperación de N en grano (ERG) reportada por Lerner *et al.* (2013) estaría relacionada con una mayor capacidad de

FV	%Pro		W		P		L		SDSS	
	%SC	p-valor								
Ciclo	0,5	*	6,5	***	3,96	***	0,1	ns	2,45	**
Variedad	26,7	***	50,7	***	66	***	38,5	***	69,5	***
Nitrógeno (N)	55,8	***	24,1	***	1,74	**	36	***	6,09	***
Ciclo*N	1,4	**	0,19	ns	0,14	ns	0,46	ns	0,03	ns
Variedad*N	6,4	**	6,42	*	18,5	***	7,02	*	7,55	ns

Tabla 5. Porcentaje de suma de cuadrados (%SC) y p-valor de las fuentes de variación (FV) consideradas para porcentaje de proteína en grano (%Pro), fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y volumen de sedimentación (SDSS).

* p-valor<0,05; ** p-valor<0,01; *** p-valor≤0,0001. Las variables expresadas en porcentaje fueron transformadas ($\sqrt{\quad}$) para su análisis. Elaborada para la presente edición.

particionar N a destinos cosechables por parte del cultivo (ICN) y no con la captura de N desde el suelo (NabsT).

Composición proteica

De los loci que codifican para subunidades de gluteninas de alto peso molecular (GAPM), *Glu-B1* fue el que presentó mayor variabilidad seguido por *Glu-A1*, siendo las variantes alélicas 7+9 y 2* las más frecuentes para el primero y el segundo, respectivamente. En cambio, el locus *Glu-D1* fue más homogéneo siendo el par de subunidades 5+10 preponderantes, excepto para la variedad León que presentó el alelo 2+12 de menor calidad (tabla 6). Estos resultados coinciden con lo reportado por Lerner *et al.* (2009) para una colección argentina de trigo pan. Para las subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (GBPM) se identificaron y agruparon patrones de bandas, encontrando gran variabilidad en la movilidad electroforética (fig. 5). Con respecto a la composición de gliadinas, el tipo CSS fue el más frecuente, siendo este de menor calidad que el tipo CNN según Masci *et al.* (1991). Solo cuatro variedades presentaron introgresión con centeno (1B/1R) y se ubicaron en los cuadrantes de baja calidad del ACP, debido a lo antes mencionado acerca del reemplazo de un grupo de GBPM y gliadinas (ω -gliadinas) por secalinas (Martín y Carrillo, 1999). La variedad ACA304

fue la única con sobreexpresión de la banda 7 (7oe), presentando buen comportamiento para las variables de eficiencia y calidad analizadas (tabla 6 y fig. 4).

El Score *Glu-1*, que califica según la composición de GAPM, no coincidió estrictamente con la clasificación por Grupo de Calidad (GC); encontrando heterogeneidad en el Score dentro de cada GC o viceversa (tabla 6). Esto puede deberse a la influencia de otras fracciones proteicas como las GBPM y las gliadinas (Branlard y Dardevet, 1985). Las primeras representan alrededor de un tercio del total de proteínas de los granos y 60% del total del gluten (Shuaib *et al.*, 2007) y tienen una influencia significativa en el uso final de la harina de trigo (Wang *et al.*, 2009), además de que adquieren importancia en este caso debido a la gran variabilidad encontrada en los patrones de bandas.

En el ACP de la figura 6, conformado de igual manera que en la figura 4, se agrupan las variedades de acuerdo a atributos fenotípicos de uso del N y calidad industrial, lo cual también puede contribuir a explicar la falta de asociación entre el Score y el GC. Las variedades ACA201, Malevo, SY100 y SRM2331, que pertenecen al GC 2, pero poseen Score 10, a excepción de SY100 que posee Score 8; registraron elevados valores en el CP 1 e intermedios en el CP 2. Esto indica que presentaron elevada fuerza

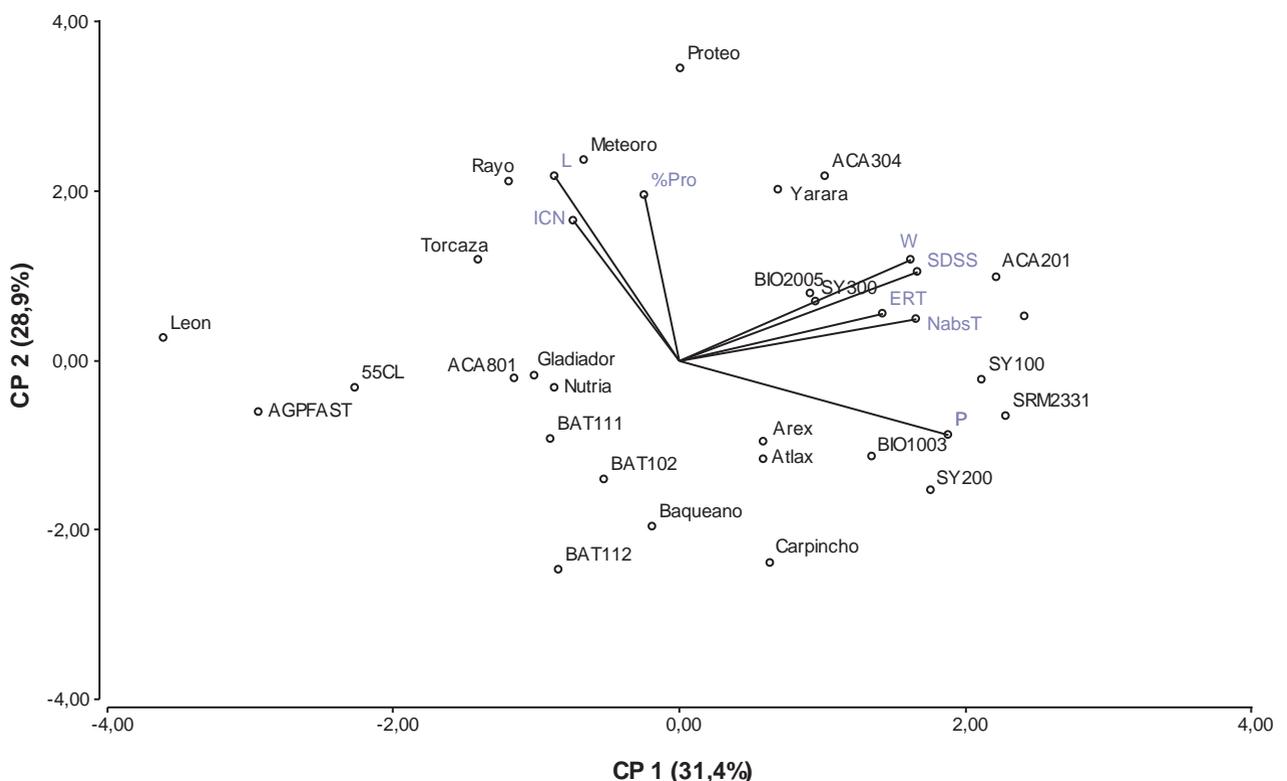


Figura 4. Biplot del primer y segundo componente principal para eficiencia de recuperación de nitrógeno total (ERT), nitrógeno absorbido total (NabsT), índice de cosecha de nitrógeno (ICN), porcentaje de proteína (%Pro), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad (L) de 27 variedades de trigo. Los genotipos están representados por los puntos y los vectores representan las variables de uso del nitrógeno y calidad industrial.

Elaborada para la presente edición.

Variedad	Glu-A1	Glu-B1	Glu- D1	Gli	GBPM	1B/1R	7oe	GC	Score
ACA201	2*	17+18	5+10	CSS	3			2	10
ACA304	2*	7+8	5+10	CNN	15		X	1	10
Baqueano	1	7+9	5+10	CSS	8	X		2	6
Malevo	2*	7+8	5+10	CNN	17			2	10
SY100	2*	6+8	5+10	CSS	11			2	8
SY200	2*	6+8	5+10	CSS	11			2	8
BIO2005	2*	7+9	5+10	CSS	1			2	9
Carpincho	1	7+9	5+10	CSS	7	X		3	6
Gladiador	1	7+9	5+10	CNN	17	X		3	6
Yarará	2*	7+9	5+10	CSS	14			1	9
Torcaza	2*	17+18	5+10	CSS	16			1	10
ACA801	2*	7+9	5+10	CSS	4			2	9
AGPFAST	ni	13+16	5+10	CSS	12			3	sd
Meteoro	2*	7+9	5+10	CNN	10			1	9
55CL	2*	7+9	5+10	CNN	16			2	9
Rayo	2*	7+8	5+10	CSS	17			1	10
SRM2331	1/2*	17+18	5+10	CSS	15			2	10
SY300	2*	6+8	5+10	CSS	11			2	8
Nutria	2*	7+9	5+10	CSS	19	X		3	6
León	N	7+9	2+12	CSS	12			3	5
BIO1003	2*	7+9	5+10	CSS	2			2	9
Atlax	1	7+9	5+10	CSS	9			2	9
Proteo	1	7+9	5+10	CSS	18			1	9
BAT102	2*	14+15	5+10	CSS	5			sd	sd
BAT111	2*	14+15	5+10	CSS	6			sd	sd
BAT112	2*	7+9	5+10	CSS	13			sd	9
Arex	2*	7+9	5+10	CSS	9			3	9

Tabla 6. Composición alélica de gluteninas de alto peso molecular (Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1), tipo de gliadinas (Gli), patrón de gluteninas de bajo peso molecular (GBPM), presencia de introgresión con centeno (1B/1R), presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7 (7oe), Grupo de Calidad (GC) y Score Glu1 (Score) para las variedades analizadas.

Elaborada para la presente edición.

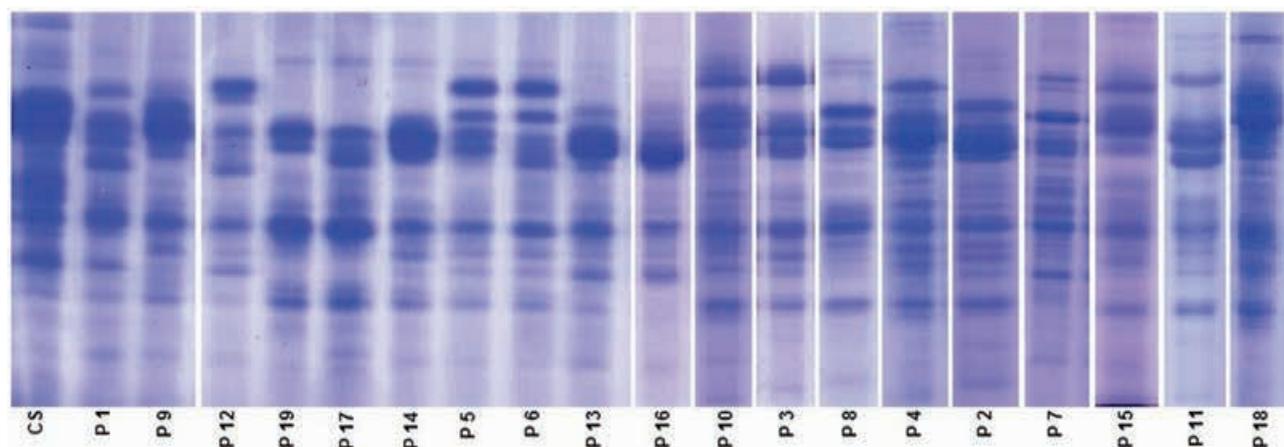


Figura 5. Patrones de movilidad electroforética de gluteninas de bajo peso molecular (GBPM). CS: Chinese Spring (marcador); P1: BIO2005; P2: BIO1003; P3: ACA201; P4: ACA801; P5: BAT102; P6: BAT111; P7: Carpincho; P8: Baqueano; P9: Atlax, Arex; P10: Meteoro; P11: SY100, SY200, SY300; P12: AGPFAST, León; P13: BAT112; P14: Yarará; P15: ACA304, SRM2331; P16: Torcaza, 55CL; P17: Malevo, Gladiador, Rayo; P18: Proteo; P19: Nutria.

Elaborada para la presente edición.

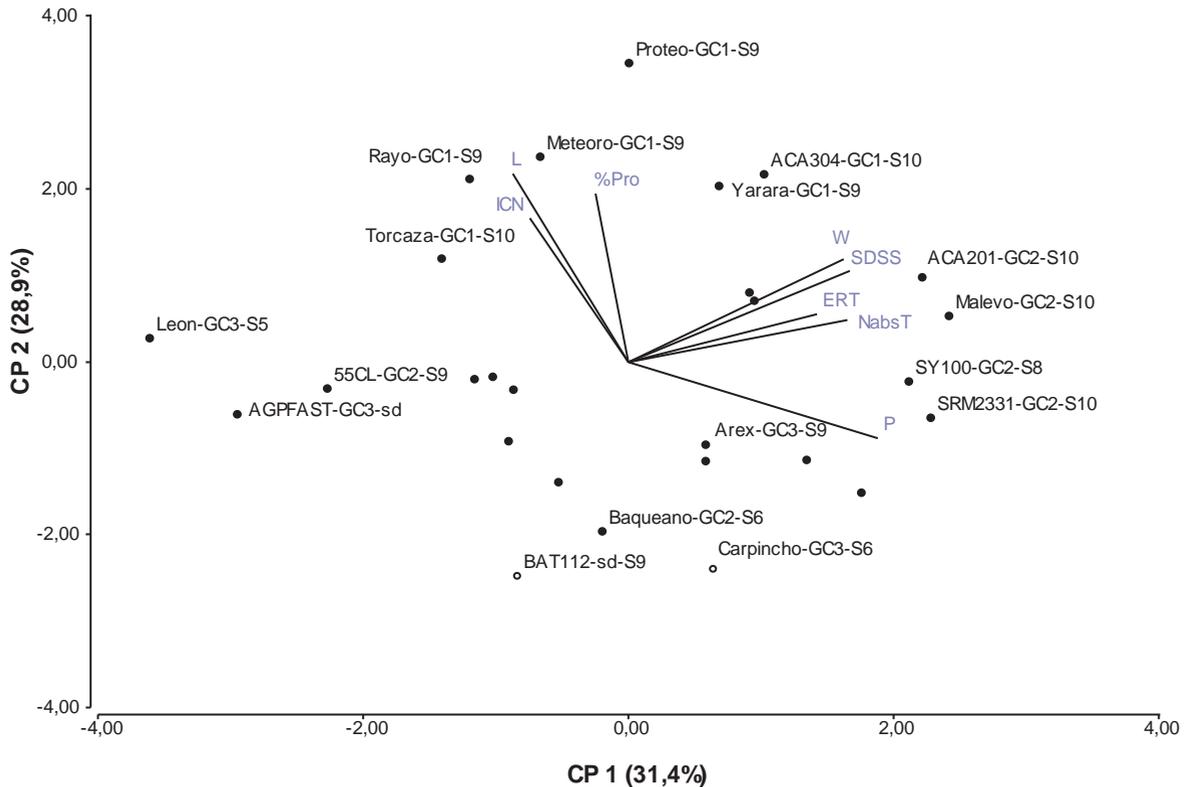


Figura 6. Biplot del primer y segundo componente principal para eficiencia de recuperación de nitrógeno total (ERT), nitrógeno absorbido total (NabsT), índice de cosecha de nitrógeno (ICN), porcentaje de proteína (%Pro), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad (L) de 27 variedades de trigo. Los genotipos están representados por los puntos y los vectores representan las variables de uso del nitrógeno y calidad industrial. Se incluyó la denominación de la variedad, Grupo de Calidad (GC) y Score *Glu-1* (S) para los genotipos mencionados en la discusión previa.

Elaborada para la presente edición.

panadera (SDSS, W) y tenacidad (P), asociado esto a ICN intermedios y elevados valores de ERT y NabsT. Por su parte, Yarára y ACA304, que pertenecen al GC 1 y con Score 9 y 10 respectivamente, registraron valores positivos en el CP 1 y el CP 2. Esto indica que presentaron elevada fuerza panadera y una relación P/L equilibrada, esto asociado a mayores ICN que los anteriores. La variedad 55CL, perteneciente al GC 2 y con Score 9, registró valores negativos en el CP1 e intermedios en el CP2; al igual que las variedades León y AGPFAST, pertenecientes al GC3, indicando una reducida fuerza panadera. Aunque estos genotipos mostraron un ICN intermedio, sus valores de ERT y NabsT son muy bajos lo cual puede explicar parcialmente dicha respuesta. Por otro lado, BAT112, que posee Score 9, se ubicó en el mismo grupo que las variedades Carpincho y Baqueano, pertenecientes al GC3 y con Score 6. Estos genotipos exhibieron valores intermedios en el CP1 y negativos en el CP2, indicando una fuerza panadera intermedia, pero con extensibilidad reducida (L) debido a bajos valores de %Pro e ICN. Otro caso a destacar es el de la variedad Arex que, pese a tener Score 9, se ubica en el GC 3. Esto podría deberse a su baja capacidad de particionar N a grano (ICN), lo cual redujo el %Pro y la extensibilidad de la masa (valores negativos en el CP 2). Por otro lado, las variedades Meteor, Torcaza y Rayo, pese a presentar

elevado Score y pertenecer al GC 1, no se ubicaron dentro del grupo de mayor W (valores negativos en el CP1). Esto podría explicarse por su elevado ICN y consiguiente aumento de %Pro y extensibilidad (valores elevados en el CP 2). De esta manera, se pueden producir desbalances en las proporciones de cada tipo de proteínas generando masas muy extensibles y afectando la calidad final (Godfrey *et al.*, 2010). Por su parte, la variedad Proteo presentó un %Pro muy elevado pero asociado a una fuerza panadera algo superior que los anteriores (tabla 6 y fig. 6). Por todo lo expuesto, la capacidad del cultivo de capturar el N del suelo y de particionarlo a grano modificó el contenido y el balance proteico de este, lo cual afectaría la expresión del potencial genético atribuido al patrón alélico de gliadinas y gluteninas.

CONCLUSIONES

El genotipo resultó la principal fuente de variación para las eficiencias de recuperación de N total, en grano y en rastrojo.

La capacidad de retranslocación de N a destinos cosechables fue afectada por la variedad, el nivel de N y su interacción, disminuyendo con altas dosis de fertilizante en la mayor parte de los genotipos.

La duración del ciclo afectó la eficiencia de recuperación total de N debido a cambios en la eficiencia de recuperación en rastrojo, aunque también se detectaron diferencias entre genotipos dentro de cada ciclo.

El contenido de proteínas en los granos y la extensibilidad de las masas fueron altamente dependientes del nivel de N en tanto que la fuerza panadera, principal atributo de calidad industrial, fue determinada en mayor medida por el genotipo.

La relación entre la extensibilidad y la eficiencia de recuperación de N en grano se relacionó con una mayor capacidad de particionar N a destinos cosechables por parte del cultivo y no con la captura de N desde el suelo.

El Score *Glu-1*, que califica según alelos de GAPM, no coincidió estrictamente con el Grupo de Calidad de la variedad, evidenciando la influencia de otras fracciones proteicas del gluten y su interacción con el ambiente.

La expresión del potencial genético atribuido a la composición alélica de gliadinas y gluteninas podría estar regulada en parte por atributos de eficiencia de uso de N.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Daniel Pérez, por su apoyo en el trabajo de laboratorio y a la Universidad Nacional del Centro, por el aporte parcial de financiamiento para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

AACC INTERNATIONAL. 1999. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 54-30.02. Alveograph Method for Soft and Hard Wheat Flour. AACC International, St. Paul, MN, EUA.

ALZUETA, I.; ABELEDO, L.G.; MIRALLES, D.J. 2008. Impacto de la fertilización nitrogenada y el momento de aplicación sobre la calidad comercial y reológica en trigo pan (*Triticum aestivum* L.). VII Congreso Nacional de Trigo, v Simposio Nacional de Cereales de siembra otoño-invernal, I Encuentro del MERCOSUR, C9, Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

AXFORD, D.W.E.; MCDERMOTT, E.E.; RED-MAN, D.G. 1979. Note on the sodium dodecyl sulfate test of bread-making quality: comparison with Pelshenke and Zeleny tests. *Cereal Chemistry* 56, 582-584.

BARRACLOUGH, P.B.; HOWARTHA, J.R.; JONESA, J.; LOPEZ-BELLIDO, R.; PARMARA, S.; SHEPHERDA, C.E.; HAWKESFORD, M.J. 2010. Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement. *European Journal of Agronomy* 33 (1), 1-11.

BRANLARD, G.; DARDEVET, M. 1985. Diversity of grain proteins and bread wheat quality. I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. *Journal of cereal science* 3 (4), 329-343.

CARRILLO, J.M.; ROUSSET, M.; QUALSET, C.O.; KASARDA, D.D. 1990. Use of recombinant inbred lines of wheat for study of associations of high-molecular-weight glutenin subunit alleles to quantitative traits. *Theoretical and Applied Genetics* 79 (3), 321-330.

CENTRO REGIONAL DE AGROMETEOROLOGÍA FA-UNCP-BA. 2011. Boletín agrometeorológico del centro-sur de la provincia de Buenos Aires, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. (<http://www.faa.unicen.edu.ar/centro/boletinesant11.php>, verificado 02/jul/2015).

CORNISH, G.B.; BÉKÉS, F.; EAGLES, H.A.; PAYNE, P.I. 2006. Prediction of dough properties for bread wheats. En: WRIGLEY, C.W.; BÉKÉS, C.F.; BUSHUK, W. (Ed.) Gliadin and glutenin. The unique balance of wheat quality. American Association of Cereal Chemists Press, St. Paul, MN, EUA, pp. 243-280.

DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2014. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (<http://www.infostat.com.ar>, revisado 02/jul/2015).

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.

FUERTES-MENDIZÁBAL, T.; AIZPURUA, A.; GONZÁLEZ-MORO, M.B.; ESTAVILLO, J.M. 2010. Improving wheat breadmaking quality by splitting the N fertilizer rate. *European Journal of Agronomy* 33 (1), 52-61.

FUERTES-MENDIZÁBAL, T.; GONZÁLEZ-MURUA, C.; GONZÁLEZ-MORO, M.B.; ESTAVILLO, J. M. 2012. Late nitrogen fertilization affects nitrogen remobilization in wheat. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175 (1), 115-124.

GODFREY, D.; HAWKESFORD, M.J.; POWERS, S.J.; Millar, S.; Shewry, P.R. 2010. Effects of crop nutrition on wheat grain composition and end use quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (5), 3012-3021.

GUARDA, G.; PANDOVAN, S.; DELOGU, G. 2004. Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy* 21 (2), 181-192.

GUPTA, R.B.; MACRITCHIE, F. 1991. A rapid one-step one-dimensional SDS-PAGE procedure for analysis of subunit composition of glutenin in wheat. *Journal of Cereal Science* 14 (2), 105-109.

INASE. 2014. RET - Red de Ensayos Comparativos de Variedades de Trigo, Grupos de Calidad, Instituto Nacional de Semillas, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina. (http://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=102&Itemid=91, revisado 02/jul/2015).

LABUSCHAGNE, M.T.; MEINTJES, G.; GROENEWALD, F.P.C. 2006. The influence of different nitrogen treatments on the size distribution of protein fractions in hard and soft wheat. *Journal of Cereal Science* 43 (3), 315-321.

LE GOUIS, J.; BÉGHIN, D.; HEUMEZ, E.; PLUCHARD, P. 2000. Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilisation efficiencies in winter wheat. *European Journal of Agronomy* 12 (3), 163-173.

LERNER, S.E.; PONZIO, N. 2004. El test de sedimentación como método para valorar calidad intrínseca en trigo. VI Congreso Nacional de Trigo y IV Simposio Nacional de Cereales de siembra otoño-invernal, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

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 (3), 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.). RIA. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 39 (1), 77-87.

MARCHYLO, B.A.; LUKOW, O.M.; KRUGER, J.E. 1992. Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats. *Journal of Cereal Science* 15 (1), 29-37.

MARTIN, P.; CARRILLO, J.M. 1999. Cumulative and interaction effects of prolamin allelic variation and of 1BL/1RS translocation on flour quality in bread wheat. *Euphytica* 108 (1), 29-39.

- MASCI, S.M.; PORCEDDU, E.; COLAPRICO, G.; LAFIANDRA, D. 1991. Comparison of the B and D subunits of glutenin encoded at the Glu-D3 locus in two biotypes of the common wheat cultivar Newton with different technological characteristics. *Journal of Cereal Science* 14 (1), 35-46.
- METAKOVSKY, E.V.; WRIGLEY, C.W.; BEKES, F.; GUPTA, R.B. 1990. Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. *Australian Journal of Agricultural Research* 41 (2), 289-306.
- MICELI, F.; MARTIN, M.; ZERBI, G. 1992. Yield, quality and nitrogen efficiency in winter wheat fertilized with increasing N levels at different times. *Journal of Agronomy and Crop Science* 168 (5), 337-344.
- MUURINEN, S.; SLAFER, G.A.; PELTONEN-SAINIO, P. 2006. Breeding effects on nitrogen use efficiency of spring cereals under northern conditions. *Crop Science* 46 (2), 561-568.
- PARK, S.H.; BEAN, S.R.; CHUNG, O.K.; SEIB, P.A. 2006. Levels of Protein and Protein Composition in Hard Winter Wheat Flours and the Relationship to Breadmaking 1. *Cereal Chemistry* 83 (4), 418-423.
- PAYNE, P.I. 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effects of allelic variation on breadmaking quality. *Annual Review of Plant Physiology* 38 (1), 141-153.
- PEÑA, R.J. 2002. Wheat for bread and other foods. En: Curtis, B.C.; Rajaram S.; Gomez Macpherson, H. (Ed.) *Bread wheat: improvement and production*. Food and Agriculture Organization, Roma, Italia, pp. 483-494.
- PINILLA QUEZADA, H.; HERRERA FLOODY, L.E. 2008. Efecto de la fertilización nitrogenada tardía en aspectos de calidad panadera en trigo (*Triticum aestivum* L.). *Idesia (Arica)* 26 (1), 77-81.
- ROSTAMI, M. A.; O'BRIEN, L. 1996. Differences among bread wheat genotypes for tissue nitrogen content and their relationship to grain yield and protein content. *Australian Journal of Agricultural Research* 47 (1), 33-45.
- SHUAIB, M.; ZEB, A.; ALI, Z.; ALI, W.; AHMAD, T.; KHAN, I. 2007. Characterization of wheat varieties by seed storage protein electrophoresis. *African Journal of Biotechnology* 6 (5).
- SHUAIB, M.; ZEB, A.; ALI, Z.; ALI, W.; AHMAD, T.; KHAN, I. 2007. Characterization of wheat varieties by seed storage-protein electrophoresis. *African Journal of Biotechnology* 6 (5), 497-500.
- VAN SANFORD, D.A.; MACKOWN, C.T. 1987. Cultivar differences in nitrogen remobilization during grain fill in soft red winter wheat. *Crop Science* 27 (2), 295-300.
- 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 common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 118 (3), 525-539.