

**Coeficiente de fertilidad de la espiga de trigo (*Triticum aestivum* L.)
como alternativa para mejorar el rendimiento potencial**

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

Nicole Pretini

Licenciada en Genética

Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires

2015

Lugar de trabajo: Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia
de Buenos Aires (CITNOBA, CONICET-UNNOBA)



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano

Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Fernanda Gabriela González

Ingeniera Agrónoma (UBA)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (UBA)

Co-director de tesis

Leonardo Sebastián Vanzetti

Licenciado en Genética (UNaM)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (UNC)

Consejero de Estudios

Daniel Julio Miralles

Ingeniero Agrónoma (UBA)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (UBA)

JURADO DE TESIS

JURADO

Victor Oscar Sadras

Ingeniero Agrónomo (UBA)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (University of Melbourne)

JURADO

Iván Ariel Matus Tejos

Ing. Agrónomo (Universidad de Concepción)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Oregon State University)

JURADO

Héctor Daniel Bertero

Biólogo (UNC)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (UBA)

Fecha de defensa de la tesis: 30 de MAYO de 2022

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a mis abuelos, Olga y Julio, quienes ya no están, pero se que estarían muy orgullosos.

Agradecimientos

Antes que a nadie quisiera agradecer a mis dos pilares en la ciencia, a mi directora Fernanda González y mi co-director Leonardo Vanzetti, ya que ellos fueron la base de todo lo logrado durante estos años. Agradezco a ambos por su acertada orientación y soporte, pero sobre todo les agradezco que me enseñaran a disfrutar de la ciencia y a sentir esa pasión por la investigación en un marco de confianza y afecto.

Agradezco a las instituciones argentinas que permitieron mi formación profesional, tanto al sistema educativo como al de ciencia y técnica.

Agradezco a mi familia, por su apoyo incondicional. A mis padres, Andrea y Marcelo, quienes me formaron como persona, pero a su vez me dieron la libertad de elegir mi camino. A mis hermanas, Constanza y Luciana, quienes son y serán siempre la primera línea de soporte emocional ante cualquier circunstancia. A mis tíos y primos, quienes logran que tenga un círculo de apoyo familiar más grande y afectuoso. A Cristi, mi mamá del alma. A Mora, mi compañera fiel.

Agradezco a mis compañeros de trabajo, los chicos del “Galpón de Ecofisiología”, con quienes pasé infinitos días de trabajo y me permitieron disfrutar de un ambiente agradable tanto laboral como humano. A los compañeros del Laboratorio de Marcos Juárez, quienes me hicieron sentir como en casa.

Agradezco a mis amigas, quienes considero mis hermanas de la vida, y finalmente agradezco a todos aquellos que contribuyeron de distinta manera a que hoy logre mis objetivos.

Declaración

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 esta u otra institución.

Pretini Nicole

Publicaciones derivadas de la tesis

- Pretini N, Vanzetti LS, Terrile II, Donaire G, González FG. 2021b. Mapping QTL for spike fertility and related traits in two doubled haploid wheat (*Triticum aestivum* L.) populations. *BMC plant Biology*, 21, 353, doi.org/10.1186/s12870-021-03061-y
- Pretini N, Alonso MP, Vanzetti LS, Pontaroli AC, González FG. 2021a. The physiology and genetics behind fruiting efficiency in wheat, a promising spike trait to improve wheat yield potential. *Journal of Experimental Botany*, 72 (11), 3987–4004, doi.org/10.1093/jxb/erab080.
- Pretini N, Vanzetti LS, Terrile II, Börner A, Plieske J, Ganal M, Röder M, González FG. 2020b. Identification and validation of QTL for fertile floret and spike fruiting efficiencies in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 133:2655–2671, doi.org/10.1007/s00122-020-03623-y
- Pretini N, Terrile II, Gazaba LN, Donaire G, Arisnabarreta S, Vanzetti LS, González FG. 2020a. A comprehensive study of spike fruiting efficiency in wheat. *Crop Science* 60: 1541-1555 doi.org/10.1002/csc2.20143
- Pretini N, Terrile II, Donaire G, González FG. 2018. Relación entre el coeficiente de fertilidad de la espiga de trigo y el peso de los granos. *Revista de Tecnología Agropecuaria*, 10 núm. 37.
- González FG, Pérez-Gianmarco TI, Pretini N, Curin F. 2018. Producción de trigo: evolución, demanda y alternativas para mejorarla. Una visión ecofisiológica. *Revista de Tecnología Agropecuaria*, 10 núm. 36.

ÍNDICE GENERAL

<i>Dedicatoria</i> _____	<i>iii</i>
<i>Agradecimientos</i> _____	<i>iv</i>
<i>Declaración</i> _____	<i>v</i>
<i>Publicaciones derivadas de la tesis</i> _____	<i>vi</i>
ÍNDICE GENERAL _____	<i>vii</i>
ÍNDICE DE CUADROS _____	<i>x</i>
ÍNDICE DE FIGURAS _____	<i>xiii</i>
<i>Abreviaturas</i> _____	<i>xvii</i>
<i>Resumen</i> _____	<i>xix</i>
<i>Abstract</i> _____	<i>xxii</i>
<i>CAPÍTULO I: Introducción general</i> _____	<i>1</i>
1.1. Planteo del problema y revisión de antecedentes _____	<i>2</i>
1.1.1. Producción actual de trigo y proyecciones futuras _____	<i>2</i>
1.1.2. Desarrollo del cultivo y modelo de generación de rendimiento _____	<i>5</i>
1.1.3. El coeficiente de fertilidad de espiga como atributo promisorio para mejorar el número de granos y su relación con el peso seco de la espiga _____	<i>8</i>
1.1.4. Identificación de las bases genéticas y moleculares _____	<i>14</i>
1.2. Objetivos _____	<i>17</i>
1.2.1. Objetivo general _____	<i>17</i>
1.2.2. Objetivos específicos _____	<i>18</i>
1.3. Hipótesis _____	<i>19</i>
1.4. Síntesis de la estructura de la tesis _____	<i>20</i>
<i>CAPÍTULO II: Relación del coeficiente de fertilidad con los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de espiga</i> _____	<i>23</i>
2.1. Introducción _____	<i>24</i>
2.2. Materiales y Métodos _____	<i>24</i>
2.2.1. Material vegetal _____	<i>24</i>
2.2.2. Experimentos y condiciones generales _____	<i>25</i>
2.2.3. Mediciones y análisis _____	<i>27</i>

2.3. Resultados	30
2.3.1. Rendimiento y variación del número de granos	32
2.3.2. Número de granos, coeficiente de fertilidad de espiga y peso seco de la espiga en antesis	33
2.3.3. Coeficiente de fertilidad de espiga en madurez y chaff	37
2.3.4. Flores fértiles por espiga y cuaje	38
2.3.5. Componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de las espigas	39
2.3.6. Relación entre el coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la espiga	42
2.4. Discusión	46
2.5. Conclusiones	49
<i>CAPITULO III: Bases genéticas del coeficiente de fertilidad de la espiga</i>	52
3.1. Introducción	53
3.2. Materiales y Métodos	56
3.2.1. Material vegetal y desarrollo de poblaciones	56
3.2.2. Genotipado y construcción del mapa genético	57
3.2.3. Fenotipado	58
3.2.3.1. Ejecución de los experimentos y condiciones generales	58
3.2.3.2. Descripción de los muestreos y caracteres fenotipados	58
3.2.4. QTL y análisis estadísticos	59
3.3. Resultados	60
3.3.1. Fenotipado de las poblaciones HD	60
3.3.2. Mapeo de QTL para CFEa, CFE y CFEm en las poblaciones HD	61
3.3.2.1. Mapas genéticos de ligamiento	61
3.3.2.2. Mapeo de QTL	63
3.3.2.3. QTL para CFEa aportados por BP11 y B19	69
3.3.2.4. QTL para CFE aportados por BP11 y B19	69
3.3.2.5. QTL para CFEm aportados por BP11 y B19	70
3.3.2.6. QTL consolidados y sus interacciones epistáticas	71
3.3.3. Resultados fenotípicos de las poblaciones F ₂	75
3.3.4. Validación de <i>QFFE.perg-5A</i> y <i>QFEm.perg-3A</i>	75
3.3.5. Efectos pleiotrópicos e interacciones entre <i>QFFE.perg-5A</i> y <i>QFEm.perg-3A</i> sobre otros caracteres de la población B19xB2002	78
3.4. Discusión	81

3.5. Conclusión	85
<i>CAPÍTULO IV: Detección de QTL para caracteres estructurales y numéricos de la fertilidad de espiga</i>	88
4.1. Introducción	89
4.2. Materiales y Métodos	94
4.3. Resultados	95
4.3.1. Mapeo de QTL	95
4.3.2. Regiones de QTL estables y mayores para fertilidad de espiga y caracteres relacionados	105
4.4. Discusión	109
4.5. Conclusiones	115
<i>CAPÍTULO V: Discusión general</i>	118
5.1. Integración de los resultados a través de los capítulos	121
5.2. Integración de <i>QFFE.perg-5A</i> y <i>QFEm.perg-3A</i> a nivel de parcela	124
5.3. Contrastación de las hipótesis	129
5.4. Aportes novedosos	131
5.5. Perspectivas a futuro	132
<i>CAPÍTULO VI: Bibliografía</i>	135
<i>CAPÍTULO VII: Material suplementario</i>	159
7.1. Figuras suplementarias	160
7.2. Cuadros suplementarios	163

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1.** Ambientes utilizados para el fenotipado de B19xB2002 y BP11xB2002. Se presentan fechas de siembra y antesis para cada ambiente. _____ 26
- Cuadro 2.** Condición de crecimiento para cada ambiente. Temperatura media, lluvia + riego y radiación fotosintéticamente activa (PAR) durante el ciclo de crecimiento. _____ 31
-
- Cuadro 3.** Porcentaje de la variación total (considerando la suma de cuadrados) explicada por el ambiente (E), el genotipo (G) y la interacción GxE; y heredabilidad en sentido estricto (h^2) para: número de granos por espiga (NG), coeficiente de fertilidad de espiga (CFE), peso seco de espiga en antesis (PSE), coeficiente de fertilidad de espiga en madurez (CFEm), chaff de la espiga en madurez (CH), raquis (R), gluma + lema + palea + arista (GLPA), flores fértiles por espiga en antesis (FF), coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (CFEa) y cuaje (GST), en B19xB2002 y BP11xB2002. _____ 35
- Cuadro 4.** Relación del número de granos por espiga (NG) con el coeficiente de fertilidad de espiga (CFE) y el peso seco de la espiga en antesis (PSE). Se indican las correlaciones de Pearson y el valor p para los genotipos dentro de cada ambiente. Se presentan ambas poblaciones. Tomada de Gazaba (2018) y publicado en Pretini et al. (2020a). _____ 36
- Cuadro 5.** Relación entre el número de granos por espiga (NG) y el coeficiente de fertilidad de espiga en madurez (CFEm) y el peso de la espiga en madurez (CH). Se indican las correlaciones de Pearson y el valor p para los genotipos dentro de cada ambiente. Se presentan ambas poblaciones. _____ 38

Cuadro 6. Porcentaje de la variación total (considerando la suma de cuadrados) explicada por el ambiente (E), genotipo (G) e interacción GXE; y heredabilidad en sentido estricto (h^2) para: número de espiguillas totales por espiga (NET), longitud de espiga (LE), compactación de espigas (CN), número de espiguillas fértiles por espiga (NEF), flores fértiles por espiguilla fértil (FFEF), peso de raquis (R) y de gluma+lema+palea+arista (GLPA) en madurez en B19xB2002 y BP11x B2002. _____	41
Cuadro 7. Medias y desvío estándar de los padres y las poblaciones en base a los valores BLUE para todos los caracteres. _____	43
Cuadro 8. Descripción del mapa genético de la población HD Baguette Premium 11 x BIOINTA 2002. _____	62
Cuadro 9. Descripción del mapa genético de la población HD Baguette 19 x BioINTA 2002. _____	63
Cuadro 10. QTL identificados para CFEa, CFE y CFEm en los cinco ambientes probados en la población BP11xB2002. _____	65
Cuadro 11. QTL identificados para CFEa, CFE y CFEm en los cinco ambientes probados en la población B19xB2002. _____	67
Cuadro 12. Efectos de <i>QFFE.perg-5A</i> y <i>QFEm.perg-3A</i> en diferentes caracteres. _____	73
Cuadro 13. QTL significativos detectados en diferentes estudios que comparten intervalo de posiciones de acuerdo con la secuencia Chinese Spring RefSeq v1.0. ____	90
Cuadro 14. QTL estables y mayores identificados para caracteres relacionados con la fertilidad de espiga en ambas poblaciones. _____	97

Cuadro 15. Análisis del impacto de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* a nivel de parcela. Valores p resultantes del ANOVA, considerando los ambientes como repeticiones en bloques. _____ 126

Cuadro 16. Valores medios de las variables medidas a nivel de parcela en función de los ambientes, *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*. _____ 127

Cuadro 17. Valores medios para la combinación de Ambientes x *QFEm.perg-3A*, en las variables donde hubo tendencia a interacción ($p < 0,10$) o interacción significativa ($p < 0,05$). _____ 128

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del crecimiento y desarrollo del cultivo de trigo desde siembra hasta madurez fisiológica, con detalle de estructuras formadas, cambios morfológicos externos y definición de componentes del rendimiento, según etapas del desarrollo. PCE: Período de Crecimiento de la Espiga. Las líneas verticales indican el momento en el cual queda definido el número final de cada estructura. Tomada de Pérez-Gianmarco 2020. _____ 5

Figura 2. Proceso de determinación del número de granos por espiga (NG). El Chaff (CH, peso seco de la espiga en madurez sin grano) se utiliza generalmente como estimador del peso seco de la espiga en antesis (PSE) y el coeficiente de fertilidad de espiga se calcula a madurez (CFEm) como estimador del CFE. FF, flores fértiles por espiga; CFEa, coeficiente de fertilidad de espiga en antesis; GST, del inglés *grain set* o cuaje (granos obtenidos por flor fértil); NEF, número de espiguillas fértiles; FFEF, flores fértiles por espiguilla fértil; NET, número de espiguillas totales; CN, compactación; LE, longitud de espiga. _____ 10

Figura 3. Esquema de muestreos en antesis (en E2 y E3) y cosecha (en E2, E3, y E4) PSE: peso seco de espiga en antesis, FF: flores fértiles, CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga, FFET: flores fértiles por espiguillas totales, FFEF: flores fértiles por espiguillas fértiles, NEF: número de espiguillas fértiles, NET: Número de espiguillas fértiles, LE: longitud de espiga, CN: compactación, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, GST: cuaje o *grain set*, CH: peso seco de espiga en madurez sin granos por espiga, R: raquis, GLPA: gluma+lema+palea+arista, NG: número de granos por espiga, CFEm:

coeficiente de fertilidad de espiga en madurez, CH m⁻²: peso seco de espiga en madurez sin granos por metro cuadrado, NG m⁻²: número de granos por metro cuadrado, CFEm m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga por metro cuadrado, CFE m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga por metro cuadrado, PG: peso medio de granos, P1000: peso medio de 1000 granos, RTO m⁻²: rendimiento m⁻², RTO: rendimiento por espiga. _____ 28

Figura 1. Diagrama del crecimiento y desarrollo del cultivo de trigo desde siembra hasta madurez fisiológica, con detalle de estructuras formadas, cambios morfológicos externos y definición de componentes del rendimiento, según etapas del desarrollo. PCE: Período de Crecimiento de la Espiga. Las líneas verticales indican el momento en el cual queda definido el número final de cada estructura. Tomada de Pérez-Gianmarco 2020. _____ 32

Figura 5. Correlaciones de Pearson entre los diferentes atributos de fertilidad de espiga y los caracteres asociados, basados en un marco fisiológico para la población BP11xB2002. _____ 45

Figura 6. Correlaciones de Pearson entre los diferentes atributos de fertilidad de espiga y los caracteres asociados, basados en un marco fisiológico para la población B19xB2002. _____ 46

Figura 7. Flujo de trabajo que muestra la línea de tiempo, las poblaciones genéticas, los ambientes y las variables medidas. E1 a E5: ambientes donde se fenotipó la población HD. PE: Pergamino, MJ: Marcos Juárez, v: verano, CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez, LE: longitud de la espiga, NET: número de espiguillas totales por espiga, NEF: número de espiguillas fértiles por espiga, CN: compactación, CH: Chaff - peso seco de espiga sin grano en madurez, FF: flores fértiles

espiga, FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil, PSE: peso seco de espiga en antesis, GST: cuaje de granos, NG: número de granos, PG: peso de granos. _____ 55

Figura 8. QTL estables y mayores detectados en la población HD de mapeo B19xB2002 para a) CFEa en el cromosoma 5A, b) CFEa en el cromosoma 1A, c) CFE en el cromosoma 5A, d) CFEm en el cromosoma 5A y, e) CFEm en el cromosoma 3A. Se indican los picos LOD máximos, la línea horizontal verde claro indica el LOD umbral (2,5). Las líneas de diferentes colores indican los diferentes ambientes para cada carácter. Pk: marcador pico (marcas rojas), d: marcador flanqueante +1LOD y p: marcador de flanqueante -1LOD (marcas de color naranja). Para la nomenclatura de los ambientes ver Cuadro 1 (Capítulo II). _____ 71

Figura 9. Efectos y grado de dominancia (D) del *QFFE.perg-5A* sobre a) CFEa, b) CFE, c) CFEm, evaluados a partir de 264 plantas F₂ y efectos y grado de dominancia del *QFEm.perg-3A* sobre d) CFEm, de 220 plantas evaluadas F₂. Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$). _____ 77

Figura 10. Marco conceptual fisiológico del análisis de las variables medidas que muestra los efectos principales y pleiotrópicos de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*. Los símbolos =, ↑, ↓, X indican sin efecto, incremento o reducción del carácter e interacción entre alelos, respectivamente, mientras que el ancho de las flechas indica la magnitud del efecto. Las flechas verdes representan el efecto de *QFFE.perg-5A*, mientras que las flechas naranjas representan el efecto de *QFEm.perg-3A*. CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez, LE: longitud de espiga, NET: número de espiguillas totales por espiga, NEF: número de espiguillas fértiles por espiga, FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil, CN: compactación de la espiga, FF: flores fértiles por espiga, PSE:

peso seco de la espiga en antesis, GST: cuaje de granos, NG: número de granos, PG: peso de granos. _____ 79

Figura 11. Gráficos de interacción entre *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* en a) LE, b) CN y c) PG. Los asteriscos indican un efecto simple significativo ($p < 0,05$) de cada QTL en presencia de cada alelo del otro QTL, mediante la prueba de Fisher. ____ 80

Figura 12. Gráficos de interacción bidireccional para LE entre *QSL.perg-2B* y *QSL.perg-7A*. Un asterisco indica un efecto simple significativo ($p < 0,05$) de cada QTL en presencia de cada alelo del otro gen, mediante la prueba de Fisher. _____ 96

Figura 13. Gráficos de interacción bidireccional para GLPA entre *QGLPA.perg-1A* y *QGLPA.perg-7A*. Un asterisco indica un efecto simple significativo ($p < 0,05$) de cada gen en presencia de cada alelo del otro gen, mediante la prueba de Fisher. ____ 104

Figura 14. Regiones genómicas representadas en cromosomas con los marcadores y su posición de referencia. _____ 108

Figura 15. Marco conceptual fisiológico de las variables medidas que muestra los efectos principales y pleiotrópicos de las regiones R5A.1 y R5A.2 y *QGW.perg-6B*. 115

Abreviaturas

ANOVA: Análisis de la varianza

CFE: Coeficiente de fertilidad de espiga estimado por espiga (granos gPSE^{-1})

CFEa: Coeficiente de fertilidad de espiga en antesis estimado por espiga (flores gPSE^{-1})

CFEm: Coeficiente de fertilidad de espiga en madurez estimado por espiga (granos gCH^{-1})

CFEm m^{-2} : Coeficiente de fertilidad de espiga en madurez estimado por metro cuadrado ($\text{NG m}^{-2}/\text{CH m}^{-2}$)

CFE m^{-2} : Coeficiente de fertilidad de espiga estimado por metro cuadrado ($\text{NG m}^{-2}/\text{PSE m}^{-2}$)

CH: Chaff - Peso seco de la espiga en madurez sin granos estimado por espiga (g espiga^{-1})

CH m^{-2} : Chaff - Peso seco de la espiga a madurez sin granos por metro cuadrado (g m^{-2})

CN: Compactación de la espiga ($\text{mm de raquis espiguilla}^{-1}$)

DBCA: Diseño de bloques completos al azar

FF: Flores fértiles ($\text{n}^{\circ} \text{ espiga}^{-1}$)

FFEF: Flores fértiles por espiguilla fértil ($\text{n}^{\circ} \text{ espiguilla}^{-1}$)

FFET: Flores fértiles por espiguillas totales ($\text{n}^{\circ} \text{ espiguilla}^{-1}$)

GLPA: Glumas+Lemas+Paleas+Aristas (g espiga^{-1})

GST: Cuaje de granos, *Grain set* ($\text{n}^{\circ} \text{ granos} / \text{n}^{\circ} \text{ flores}$)

GWAS: Estudios de asociación de genoma completo, *Genome-wide association study*

LE: Longitud de espiga

MAS: Selección asistida por marcadores, *Marker assisted selection*

NEF: Número de espiguillas fértiles ($\text{n}^{\circ} \text{ espiga}^{-1}$)

NET: Número de espiguillas totales ($\text{n}^{\circ} \text{ espiga}^{-1}$)

NG: Número de granos por espiga ($\text{n}^{\circ} \text{ espiga}^{-1}$)

NG m^{-2} : Número de granos por metro cuadrado ($\text{n}^{\circ} \text{ m}^{-2}$)

ns: No significativo

PBE: Partición de biomasa a las espigas

PCE: Período de crecimiento de la espiga

PG: Peso medio de granos (mg)

P1000: Peso medio de mil granos (g)

PSE: Peso seco de la espiga en antesis por espiga (g espiga^{-1})

PSE m^{-2} : Peso seco de espiga en antesis por metro cuadrado (g m^{-2})

QTL: Locus de carácter cuantitativo, *Quantitative Trait Locus*

R: Raquis (g espiga^{-1})

RIL: Líneas endocriadas recombinantes, *Recombinant Inbred Lines*

RTO: Rendimiento por espiga (g espiga^{-1})

RTO m^{-2} : Rendimiento (g m^{-2})

SNP: Polimorfismo de nucleótido simple, *Single-nucleotide polymorphism*

TCC: Tasa de crecimiento del cultivo

TCE: Tasa de crecimiento de la espiga

Resumen

Coefficiente de fertilidad de la espiga de trigo (*Triticum aestivum* L.) como alternativa para mejorar el rendimiento potencial

Este trabajo se focalizó en el coeficiente de fertilidad de la espiga (CFE-granos por peso seco de espiga en antesis), una característica promisoría para la mejora genética del rendimiento potencial. Basada en un modelo fisiológico robusto, que contempla no sólo al CFE, sino también al coeficiente de fertilidad en antesis (CFEa-flores fértiles por peso seco de espiga en antesis) y a su estimador en cosecha (CFEm-granos por unidad de peso seco de chaff a cosecha), el objetivo general de este trabajo fue analizar las relaciones fisiológicas e identificar las bases genéticas y moleculares del coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga. Para ello se utilizaron dos poblaciones haploides duplicadas generadas a partir de padres contrastantes para CFE. Estos padres son cultivares de alto rendimiento (Baguette Premium 11 y Baguette 19 de alto coeficiente y BioINTA 2002, de bajo coeficiente). Dichas poblaciones fueron genotipadas con 90.000 marcadores SNPs y fenotipadas en las EEA INTA Pergamino y Marcos Juárez totalizando 4 o 5 ambientes (dependiendo de la población).

Los resultados permiten concluir que las espigas con mayor coeficiente de fertilidad son más cortas y compactas, invirtiendo menor materia seca en componentes estructurales. Como consecuencia de ello, el número de flores fértiles por espiguilla es mayor y el cuaje de granos mejora, incrementado de esta forma el número de granos por espiga. En cuanto a las bases genéticas, se identificaron 33 QTL mayores y estables, 28 para estructura de espiga y 5 para coeficiente de fertilidad. En relación con estos últimos,

QFEm.perg-3A (para CFEm) y *QFFE.perg-5A* (para CFEa, CFE y CFEm) fueron validados en poblaciones F₂ independientes. El estudio de sus efectos pleiotrópicos determinó que *QFEm.perg-3A* incrementa 10%, mientras que *QFFE.perg-5A* 16%, el rendimiento de la espiga por unidad de peso seco particionado hacia la misma en antesis de manera aditiva, resultando en un incremento del rendimiento de espiga en 3 y 5%, y de rendimiento m⁻² de 5% y 7%, respectivamente. Los marcadores KASP asociados a ellos pueden ser utilizados en programas de selección asistida con el objetivo de mejorar la tasa de ganancia del rendimiento potencial en trigo, al poder realizar selección temprana de esta característica dentro de los planes de mejoramiento.

Palabras claves (5-10): coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, cuaje de grano, peso seco de espiga en antesis, chaff, longitud de espiga, compactación de espiga, peso de grano, QTL, efectos pleiotrópicos, efectos epistáticos.

Abstract

Wheat (*Triticum aestivum* L.) Spike fruiting efficiency as an alternative to increase yield potential

This work is focused on the spike fruiting efficiency (FE-grains per spike dry weight at anthesis), a promising trait for the genetic improvement of yield potential. Based on a robust physiological model, which considers not only FE, but also spike fruiting efficiency at anthesis (FEa- fertile florets per spike dry weight at anthesis) and its estimator at harvest (FEm -grains per unit of chaff dry weight at harvest), the general objective of this thesis was to analyze the physiological relationships and identify the genetic and molecular bases of spike fruiting efficiency and the structural and numerical components of spike fertility. For this, two double haploid populations generated from parents contrasting for FE were used. These parents are high-yield cultivars (Baguette Premium 11 and Baguette 19, with a high fruiting efficiency and BioINTA 2002, with a low fruiting efficiency). These populations were genotyped with 90,000 SNPs markers and phenotyped in the EEA INTA Pergamino and Marcos Juárez in 4 or 5 environments (depending on the population).

Results allowed to conclude that the spikes with the highest spike fruiting efficiency are shorter and more compact, investing less dry matter in structural components. Consequently, the number of fertile florets per spikelet is higher and grains set improves, thus increasing the number of grains per spike. Regarding the genetic bases, 33 major and stable QTL were identified, 28 for spike structure and 5 for spike fruiting efficiency. Regarding the latter, *QFEm.perg-3A* (for FEm) and *QFFE.perg-5A* (for FEa, FE and FEm) were validated in independent F₂ populations. The pleiotropic effects

determined that *QFEm.perg-3A* increases by 10%, while *QFFE.perg-5A* increases by 16%, the spike yield per unit of spike dry weight partitioned towards in anthesis, in an additive way, resulting in an increase in spike yield of 3 and 5%, and yield m^{-2} of 5% and 6,8%, respectively. The KASP markers associated with them can be used in assisted selection programs in order to improve the potential yield gain rate in wheat, by being able to make early selection of this characteristics within breeding plans.

Key words (5-10): spike fruiting efficiency at anthesis, grain set, spike dry weight at anthesis, chaff, spike length, spike compactness, grain weight, QTL, pleiotropic effects, epistatic effects.

CAPÍTULO I: Introducción general

1.1. Planteo del problema y revisión de antecedentes

1.1.1. Producción actual de trigo y proyecciones futuras

El trigo pan (*Triticum aestivum L.*) es uno de los principales cereales que abastecen la demanda mundial de alimentos ya que provee el 20% de las calorías en la dieta humana, siendo así clave su producción para asegurar un estándar razonable de seguridad alimentaria (Tweeten y Thompson 2008; Chand 2009; Reynolds et al. 2012). Está previsto que la población mundial aumente en más de 1.000 millones de personas en los próximos 15 años, por lo que se alcanzarían los 9.700 millones en 2050 (ONU 2021). Este incremento poblacional, asociado a una mejora en la calidad de las dietas, provocará un aumento en la demanda de trigo por lo que es necesario que su producción crezca aproximadamente un 50% entre 2008 y 2050 (Borlaug 2007; Chand 2009; FAO 2016).

El aumento de la producción podría en teoría lograrse a través de incrementos en el área sembrada. Sin embargo, el área mundial ocupada con trigo se encuentra estabilizada (221 ± 8 Mha) desde hace poco más de medio siglo (1961) (FAO 2016). Por el contrario, la producción mundial aumentó a una tasa elevada desde los 70' (11,6 Mt año⁻¹) para declinar a casi la mitad (6,3 Mt año⁻¹) a partir de 1991, totalizando en la actualidad 766,5 Mt (FAO 2021). Esta tendencia fue consecuencia de variaciones en la ganancia de rendimiento alcanzado, que cayó de 49 a 33 kg ha⁻¹ año⁻¹ comparando los períodos 1970-1990 vs 1991-2014 (FAO 2016). Dado que el área sembrada se encuentra estabilizada, e intentar ampliarla implicaría utilizar áreas de alta susceptibilidad a la degradación (Andrade 2011), los principales esfuerzos para incrementar la producción mundial deben concentrarse en seguir mejorando el rendimiento alcanzado. Sin embargo, la expectativa de alcanzar dicha meta es escasa ante un escenario de desaceleración de la ganancia de rendimiento (caída de 34% entre los períodos pre y post 1990/91).

Argentina produce alrededor de 18,8 Mt de trigo (2017-2019, FAO 2020), aproximadamente un 2% de la producción mundial, de los cuales 6 a 7 Mt son para consumo interno y el resto saldo exportable. El incremento en la demanda a nivel mundial implica una gran oportunidad para un país exportador como el nuestro. El área destinada a trigo creció, con grandes variaciones interanuales, desde las 3,7 Mha en 1970 hasta las 7 Mha en 1996. La producción copió dicho incremento, desde 4,9 a 16 Mt. A partir de allí, la superficie de trigo cayó en forma sostenida hasta las 3,6 Mha (2015/16, www.agroindustria.gob.ar), una tendencia atribuible, principalmente, a las regulaciones del mercado de exportación durante los últimos años del período. La ganancia en rendimiento alcanzado ($34,7 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, 1970-2014, FAO 2016) permitió sostener en parte la producción, la que promedió las 10,3 Mt en 2015/2016, con rendimiento promedio de $2,9 \text{ t ha}^{-1}$ (www.agroindustria.gob.ar). Actualmente, el cultivo incrementó su superficie cosechada a 6,7 Mha durante la última campaña (2019/20), llevando la producción nacional a 19,8 Mt, observándose un gran incremento interanual respecto a la cosecha 2015/16, con un rinde promedio nacional de $2,9 \text{ t ha}^{-1}$ (www.agroindustria.gob.ar).

Gran parte de la producción se obtiene en la Región Pampeana, una de las zonas productoras más importantes del mundo (Hall 1992). Dentro de dicha región, la provincia de Buenos Aires aporta el 57% de la producción nacional (2021 - www.agroindustria.gob.ar). El Noroeste bonaerense⁽¹⁾ es una de las subregiones más productivas (Pampa ondulada), aportando el 12,3% de la producción provincial (2016-2017, www.agroindustria.gob.ar). Argentina podría sostener esta producción si lograra

⁽¹⁾Partidos de 25 de Mayo, 9 de Julio, Alberti, Arrecifes, Baradero, Capitán Sarmiento, Carmen de Areco, Chacabuco, Colón, Junín, Pergamino, Ramallo, Rojas, Salto, San Andrés de Giles, San Antonio de Areco, San Nicolás, San Pedro.

mantener los valores históricos de 6,5 M ha y sostener los 3,0 t ha⁻¹ de rendimiento real. Para superar dicho valor debería mejorarse el rendimiento alcanzado por el productor.

Una vía para aumentar el rendimiento alcanzado por el productor consiste en mejorar el rendimiento potencial (es decir, el rendimiento de un cultivar adaptado sin restricciones hídrica ni nutricionales y libre de estreses bióticos, Evans et al. 1993) mediante mejoramiento genético, dado que esta mejora generalmente se expresa en ambientes óptimos y sub-óptimos (Fischer 1984; Calderini y Slafer 1998; Slafer y Araus 2007; Fischer 2007; Reynolds et al. 2009; Fischer y Edmeades 2010). La tasa de progreso genético del rendimiento potencial ha sido cercana al 1% (entre 1984-1995, Sayre 1997; Abbate et al. 1998; Shearman 2005), pero durante los últimos años se han reportado valores que oscilan entre 0,6 y 1,1% (Fischer et al. 2014). En Argentina, trabajos recientes indican ganancias entre 0,18% (entre 1990 y 2011, Lo Valvo et al. 2018) y 0,74% año⁻¹ (entre 1970 y 2011, Curin et al. 2021). Estas tasas se encuentran por debajo de 2,4% año⁻¹, que es la proyectada a nivel global como necesaria para alcanzar la producción demandada en el futuro (Ray et al. 2013). El mejoramiento de trigo se ha basado en la selección empírica del rendimiento *per se* debido a la complejidad del carácter y a la falta de conocimiento y herramientas útiles, ya sean fisiológicas y/o genéticas, con aplicabilidad real en los programas de mejora (Snape y Moore 2007). Comprender las bases fisiológicas y genéticas de los atributos que definen el rendimiento potencial en el ambiente objetivo de mejora ayudaría a identificar atributos promisorios para asistir al mejoramiento tradicional y mejorar la tasa de ganancia genética (Slafer 2003).

1.1.2. Desarrollo del cultivo y modelo de generación de rendimiento

Durante el ciclo del cultivo se pueden identificar cambios tanto a nivel morfológico como fisiológico, ya sean externos o internos, que marcan el inicio y fin de generación de distintos órganos y, de esta forma, los períodos de generación de componentes numéricos del rendimiento (Figura 1).

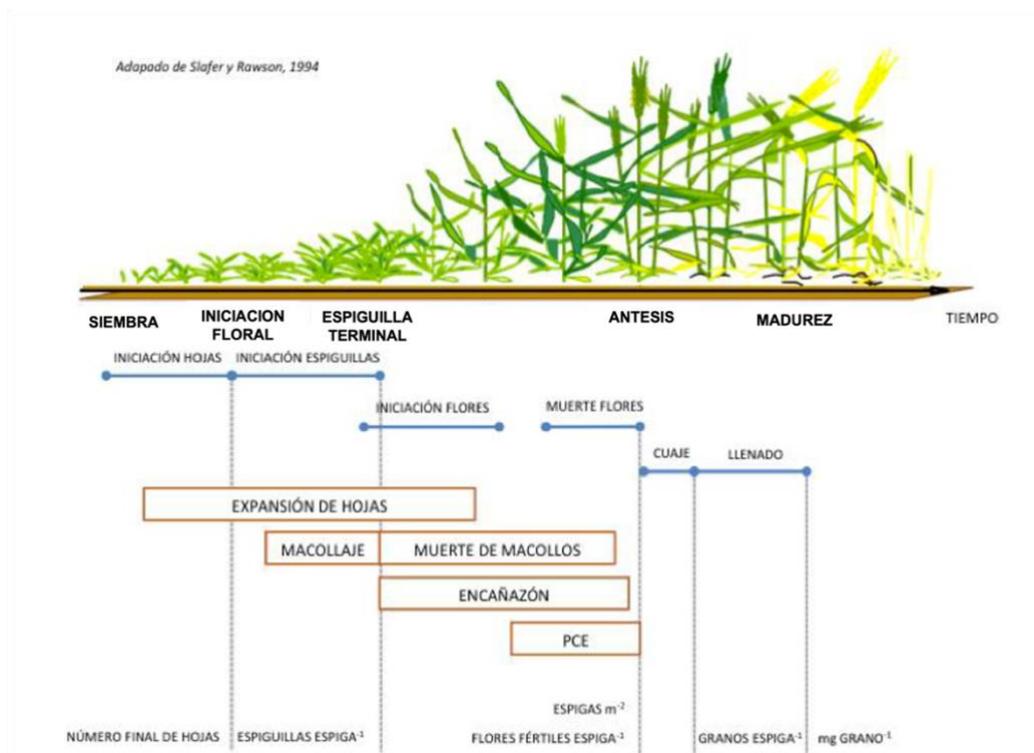


Figura 1. Diagrama del crecimiento y desarrollo del cultivo de trigo desde siembra hasta madurez fisiológica, con detalle de estructuras formadas, cambios morfológicos externos y definición de componentes del rendimiento, según etapas del desarrollo. PCE: Período de Crecimiento de la Espiga. Las líneas verticales indican el momento en el cual queda definido el número final de cada estructura. Tomada de Pérez-Gianmarco 2020.

La ontogenia del cultivo puede dividirse en tres fases. Una primera fase, denominada vegetativa, donde se diferencian hojas, que abarca desde la imbibición hasta

la iniciación floral. Continúa una segunda etapa, reproductiva, donde se diferencian las espiguillas (desde iniciación floral hasta espiguilla terminal) y posteriormente las flores dentro de ellas, culminando con la antesis. Finalmente, una tercera fase, denominada llenado de grano, que está comprendida desde este último punto hasta la madurez fisiológica.

Desde un punto de vista numérico, el rendimiento a nivel de cultivo (RTO m^{-2}) puede dividirse en dos grandes componentes: el número de granos por metro cuadrado (NG m^{-2}) y el peso medio de dichos granos (PG) [1]. El NG m^{-2} queda definido aproximadamente 10 días post antesis, cuando los granos superan la etapa de cuaje (o fase lag del llenado de grano), mientras que el peso queda fijado en madurez fisiológica. Si bien el NG m^{-2} se genera durante gran parte del ciclo, el período previo (-20 días aprox.) y posterior (+10 días aprox.) a la antesis es crítico para su definición (Fischer 1975, 1985). Durante este período se determina la supervivencia de los macollos y así el número de espigas m^{-2} y el número de flores fértiles por espiga (FF). Durante el período pre-antesis se diferencian entre 6 a 12 primordios florales por espiguilla (Sibony y Pinthus 1988; Youssefian et al. 1992). Sin embargo, muchas de las flores iniciadas abortan (denominado como “mortalidad floral” o “degeneración floral”), reduciéndose a unas pocas las que alcanzan el estado de flor fértil en antesis (Langer y Hanif 1973; Kirby 1988; Siddique et al. 1989a). La cantidad de asimilados particionados a la espiga durante este período determina el grado de mortalidad floral y el peso final de la espiga en antesis (Fischer 1975, 1985; Kirby 1988; Ghiglione et al. 2008; González et al. 2011a), explicando la relación positiva frecuentemente encontrada entre el peso seco de las espigas por m^{-2} en antesis (PSE m^{-2}) y el número de flores fértiles por m^{-2} y granos por m^{-2} (NG m^{-2}) (Fischer y Stockman 1980; Stockman et al. 1983; Thorne y Wood 1987; Slafer et al. 1990; Savin

y Slafer 1991; Abbate et al. 1997; Demotes-Mainard et al. 1999). Basado en este modelo ecofisiológico, Fischer (1984) propuso comprender el número de granos como el resultado del peso seco de las espigas en antesis y su coeficiente de fertilidad (CFE- número de granos logrados por unidad de peso de espiga en antesis [2]). A su vez, el peso de las espigas en antesis depende de la duración del período de crecimiento (PCE) y la tasa de crecimiento de las espigas (TCE) siendo ésta última función de la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y de la partición de biomasa a las espigas (PBE) durante la etapa pre-antesis [3].

$$[1] \text{RTO m}^{-2} = \text{NG m}^{-2} \times \text{PG}$$

$$[2] \text{NG m}^{-2} = \text{PSE m}^{-2} \times \text{CFE}$$

$$[3] \text{NG m}^{-2} = \text{PCE} \times \text{TCC} \times \text{PBE} \times \text{CFE}$$

El mejoramiento del rendimiento de trigo durante el siglo pasado se basó en el aumento del NG m^{-2} a través de una mayor PBE, como un efecto indirecto de la reducción de la altura de la planta (Siddique et al. 1989a; Slafer et al. 1990; Slafer y Andrade 1993; Calderini et al. 1999). Este mayor NG m^{-2} estuvo estrechamente vinculado a la producción de granos por espiga (NG) pero sin una tendencia consistente en el número de espigas por unidad de área (Waddington et al. 1986; Perry y D'Antuono 1989; Siddique et al. 1989b; Slafer y Andrade 1993; Slafer y Andrade 1989; Acreche et al. 2008; Del Pozo et al. 2014; Lo Valvo et al. 2018; Curin et al. 2021). Dado que los cultivares actuales ya se encuentran en una altura óptima, nuevas y diferentes alternativas han sido planteadas para incrementar el rendimiento potencial del cultivo (Reynolds et al. 1996; Slafer et al. 1996; Reynolds et al. 2010; Foulkes et al. 2011; Foulkes y Reynolds 2015). En germoplasma local, el número de granos sigue siendo un atributo importante para mejorar el rendimiento potencial (González et al. 2014; Lo Valvo et al. 2018; Curin et al.

2021). Utilizando cultivares relativamente recientes (liberados entre 2000-2008) y adaptados al norte de Buenos Aires, González et al. (2011b) mostraron que las diferencias en $RTO\ m^{-2}$ y $NG\ m^{-2}$ entre los cultivares estaban altamente asociadas a variaciones en el CFE, coincidiendo con resultados similares observados en cultivares liberados previo a la década del 90 adaptados al sudeste de Buenos Aires (Abbate et al. 1998). Trabajos posteriores también encontraron una relación positiva entre el $NG\ m^{-2}$ y el $CFE\ m^{-2}$ en germoplasma moderno, realzando la importancia de esta característica (Lázaro y Abbate 2012; García et al. 2014; Terrile et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018). De esta manera, en germoplasma local adaptado a la Pampa Ondulada, se ha propuesto al CFE como atributo promisorio para mejorar el $NG\ m^{-2}$ y de esta forma el rendimiento potencial (González et al. 2011b). A partir del estudio de González et al. (2011b), se seleccionaron cultivares contrastantes para CFE, pero similares para otras características que afectan el número de granos (ciclo a antesis, PCE -estimado como duración del período de encañazón-, altura, $PSE\ m^{-2}$ y número de espigas m^{-2}) y se desarrollaron dos poblaciones haploides duplicadas (HD) que fueron utilizadas en este trabajo.

1.1.3. El coeficiente de fertilidad de espiga como atributo promisorio para mejorar el número de granos y su relación con el peso seco de la espiga

El CFE es una característica compleja puesto que integra: (i) la partición de biomasa dentro de la espiga entre estructuras de sostén (CH, chaff = raquis+gluma+lema+palea+arista) y flores fértiles, (ii) la dinámica de evolución de las flores hasta su estado de flor fértil, y (iii) el cuaje de los granos (número de granos/número de flores fértiles). De allí que el CFE a su vez puede comprenderse como el producto entre el coeficiente de fertilidad de la espiga en antesis (CFEa) [4], es decir, número de

flores fértiles (FF) establecidas por unidad de peso seco de espiga en antesis (PSE), y el cuaje de granos (GST, del inglés *grain set*) (Figura 2). Como el PSE es complejo de medir cuando el número de parcelas es grande, o en las primeras generaciones de un plan de mejoramiento (es una medición destructiva y que consume mucho tiempo), se utiliza como estimador el peso seco de las espigas en madurez sin granos (o Chaff) (por ejemplo, Stapper y Fischer 1990; González et al. 2011b; Martino et al. 2015; Alonso et al. 2018). Entonces, el coeficiente de fertilidad de espiga a menudo se calcula como el número de granos producidos por unidad de chaff, denominado en el presente trabajo como coeficiente de fertilidad de espiga a madurez (CFEm), de acuerdo con Fischer y Rebetzke (2018).

$$[4] \text{CFE} = \text{CFEa} \times \text{GST} = (\text{FF} / \text{PSE}) \times \text{GST}$$

Algunos autores (Abbate et al. 2013) informaron una alta correlación entre el CFE medido a madurez (es decir, CFEm) y a los 7 días post antesis, mientras que otros (Slafer et al. 2015) han mostrado una baja correlación entre el CFE y el CFEm (Elía et al. 2016). A medida que el CFE es mayor suele incrementarse la subestimación realizada por el CFEm (Slafer et al. 2015), y a veces pueden observarse cambios de ranking en los genotipos (Elía et al. 2016). Las dos poblaciones HD utilizadas en este trabajo mostraron una correlación global moderada entre CFE y CFEm (Pretini et al. 2020a), coincidiendo con Elía et al. (2016), la cual dependió principalmente de los ambientes probados porque el uso del CH como estimador del PSE fue variable según el ambiente. El CH fue más pesado que el PSE en la mayoría de los casos (Pretini et al. 2020a), confirmando que puede ser un 20-50% mayor (Fischer y Stockman 1980; Stockman et al. 1983; Slafer et al. 2015; Elía et al. 2016) por factores aún desconocidos (Fischer 2011; Slafer et al. 2015).

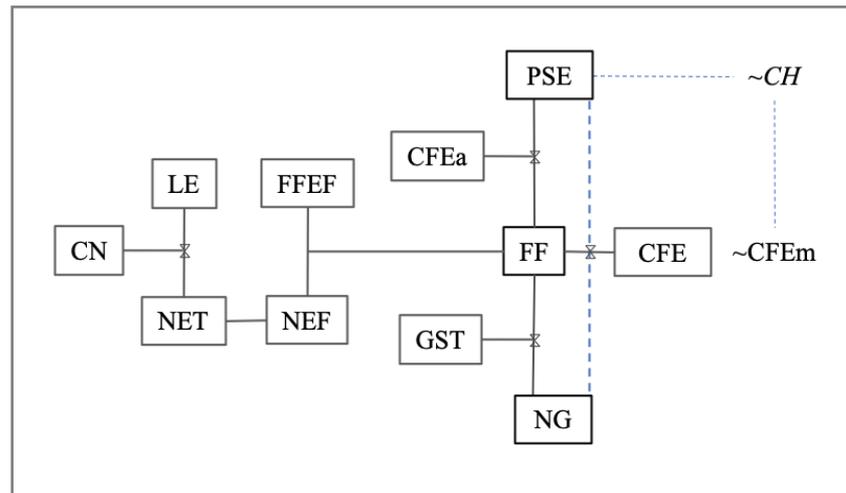


Figura 2. Proceso de determinación del número de granos por espiga (NG). El Chaff (CH, peso seco de la espiga en madurez sin grano) se utiliza generalmente como estimador del peso seco de la espiga en antesis (PSE) y el coeficiente de fertilidad de espiga se calcula a madurez (CFEm) como estimador del CFE. FF, flores fértiles por espiga; CFEa, coeficiente de fertilidad de espiga en antesis; GST, del inglés *grain set* o cuaje (granos obtenidos por flor fértil); NEF, número de espiguillas fértiles; FFEF, flores fértiles por espiguilla fértil; NET, número de espiguillas totales; CN, compactación; LE, longitud de espiga.

Al inicio de este trabajo no había publicaciones que mostraran la relación entre el CFEa y el CFE, donde el cuaje de flores fecundadas puede afectar el número de granos obtenidos. Si bien, en los cultivares modernos de trigo el cuaje suele ser alto (> 80% de las flores fértiles forman granos, Siddique et al. 1989a; González et al. 2003; Elía et al. 2016), recientemente en cultivares elite alemanes se reportaron en ensayos de invernáculo GST menores al 60% (Guo et al. 2016). El estudio fenotípico de las poblaciones utilizadas en este trabajo (Pretini et al. 2020a) mostró que la correlación entre CFE y CFEa fue mayor que entre CFE y CFEm. Sin embargo, el CFE no se estableció completamente en antesis, ya que el GST tuvo un gran impacto en la determinación del NG (Pretini et al. 2020a). Por ello, en el presente trabajo, se aborda el estudio del GST y del CFEa, además del CFE y su estimador a madurez, CFEm.

Para que la selección por CFE resulte en mayor NG primero, y en mayor rendimiento después, no debiera observarse una respuesta compensatoria del PSE y del peso de los granos al incremento del CFE. Existen contradicciones respecto a la relación entre el CFE y el PSE. Algunos autores han reportado una relación negativa (Dreccer et al. 2009; Ferrante et al. 2012; Lázaro y Abbate 2012; Terrile et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018) mientras que otros no (González et al. 2011b; García et al. 2014; Rivera-Amado et al. 2019), indicando que podría ser factible encontrar cultivares de alto CFE y alto PSE. El estudio de las poblaciones HD utilizadas en este trabajo (Pretini et al. 2020a) mostró una fuerte correlación negativa entre el CFEa y el CFE vs el PSE para la variación entre genotipos dentro de los ambientes, pero sólo fue negativo a través de ambientes (considerando todos los genotipos) para CFEa y no significativo para CFE. La variabilidad ambiental podría explicar los diferentes resultados reportados sobre las compensaciones entre PSE y CFE. El trabajo de Pretini et al. (2020a) fue el primero en informar sobre la compensación entre PSE y CFEa, y debe tomarse con cuidado ya que una variable incluye matemáticamente a la otra. De hecho, al estimar el grado de correlación espuria entre ambas variables, de acuerdo con Brett (2004), ésta dio valores medios a altos (entre 0,45 y 0,80 dependiendo de la población y el ambiente) (Pretini et al. 2020a). Sin embargo, se observó una gran variación para el CFEa a un mismo valor de PSE para los distintos genotipos dentro de los ambientes (Pretini et al. 2020a). Con respecto a la relación entre el peso de grano y el CFE, las evidencias son también contradictorias. Mientras que Fischer y HilleRisLambers (1978), Ferrante et al. (2012) y Terrile et al. (2017) observaron una respuesta negativa, González et al. (2014), Lo Valvo et al. (2018) y Rivera-Amado et al. (2019) no observaron dicha respuesta. El estudio de estas compensaciones es abordado en esta tesis desde un enfoque genético, a partir del estudio de efectos pleiotrópicos de los QTL detectados (ver próximo ítem 1.1.4).

Para que una característica sea promisorio para selección fenotípica como rasgo secundario en la mejora del rendimiento potencial, además de estar funcionalmente asociado a la generación del rendimiento y presentar variabilidad genotípica en el germoplasma a mejorar en el ambiente objetivo, ésta debe mostrar valores medios (0,20-0,50) a altos ($> 0,50$) de heredabilidad (Stanfield 1971; Jackson et al. 1996; Araus et al. 2008). Trabajos previos mostraron un alto impacto del genotipo y una interacción genotipo x ambiente (GxA) relativamente baja en el CFE (Terrile et al. 2017) y el CFEm (Mirabella et al. 2016; González et al. 2011a), excepto en condiciones de estrés térmico alrededor de la antesis (Terrile et al. 2017). Algunos autores reportaron que la heredabilidad en sentido estricto para CFEm es alta (Alonso et al. 2018) pero no había informes al respecto para el CFE y el CFEm. En Pretini et al. (2020a) pudimos establecer, para las dos poblaciones HD que utilizamos en este trabajo, que la heredabilidad en sentido estricto para el CFE puede ser alta o nula (dependiendo de la población de estudio), mientras que la heredabilidad del CFEm fue alta para ambas poblaciones. En dicho trabajo (Pretini et al. 2020a) reportamos por primera vez la heredabilidad en sentido estricto del CFEm (0,58 a 0,52) la cual resultó ser similar a la del CFE (0,60) y CFEm (0,63 a 0,56).

El número de flores fértiles por espiga (FF) está determinado desde el punto de vista numérico por la cantidad de espiguillas totales por espiga (NET), el número de ellas que sean fértiles (es decir, que posean al menos una flor fértil, NEF), y el número de flores fértiles por espiguilla fértil (FFEF) (Figura 2). La longitud total de la espiga (LE) y su compactación (CN, mm de raquis entre espiguillas) están asociadas a la cantidad de espiguillas totales y podría afectar al número de espiguillas fértiles. La relación entre el CFEm y los componentes estructurales (por ejemplo, LE, CN) y numéricos de la fertilidad

de la espiga (por ejemplo, NET, NEF, FFEF) no ha sido cuantificada en trabajos previos, como así tampoco la heredabilidad en sentido estricto de algunos de dichos componentes. La mera observación visual a cosecha indicaría que las espigas de alto coeficiente de fertilidad son más cortas, más compactas y con mayor fertilidad de espiguilla (Alonso et al. 2018).

Como se mencionó previamente, el coeficiente de fertilidad de la espiga es una característica compleja que incluye la partición de los asimilados entre estructura de sostén (raquis, glumas+lema+palea+aristas) y órganos reproductivos. En el estudio previo de las poblaciones HD (Pretini et al. 2020a) pudimos observar que el GST estuvo correlacionado positivamente con el CFE y con el crecimiento post-antesis de la espiga. Considerando que el GST dependería no sólo del tamaño del ovario de las flores distales dentro de la espiguillas (Guo et al. 2016), sino también del crecimiento de la espiga durante los 10 días post-antesis (Fischer 1975, 1985), es probable que los cultivares con alto CFE hayan incrementado las FF sin reducir el tamaño de los ovarios a expensas de una mayor partición de asimilados a los órganos reproductivos y menor crecimiento de la estructura de sostén y que dichas diferencias en partición se mantengan en post-antesis. Existe un único trabajo previo (Abbate et al. 1998), que estudió la partición de materia seca entre los distintos componentes estructurales de la espiga a cosecha en seis cultivares de trigo. De acuerdo con dicho trabajo los materiales de alto CFE tendrían menor peso de raquis. En el presente trabajo se aborda el estudio del CFEa, CFE y CFEm, en conjunto con los componentes estructurales y numéricos de la espiga, de forma de comprender sus relaciones.

En resumen, el presente trabajo aborda los aspectos fisiológicos poco explorados mencionados previamente, complementado los estudios ya publicados sobre la relación entre los diferentes coeficientes de fertilidad y su heredabilidad (Pretini et al. 2020a).

1.1.4. Identificación de las bases genéticas y moleculares

La aproximación de medir el CFEa y el cuaje en conjunto con los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, si bien es valiosa desde el punto de vista fisiológico para comprender los procesos involucrados, es impracticable en programas de mejoramiento dada su complejidad de determinación. En su lugar, se ha planteado que la medición a madurez de un par de espigas puede resultar en aproximaciones adecuadas del CFEm de la parcela (Abbate et al. 2013), principalmente si se toman espigas de vástago principal o primer macollo (Terrile et al. 2017). Por otro lado, estudios previos (Quail et al. 1989; Martino et al. 2015) han mostrado la factibilidad de realizar selección fenotípica temprana del CFEm. Martino et al. (2015), seleccionando las plantas F₂ con los valores de CFEm dentro del 25% superior de las poblaciones utilizadas observó un incremento promedio de 28% en dicha característica en la filial siguiente (F_{2:3}). Por su parte, Quail et al. (1989) observó una buena correlación entre el CFEm medido en plantas individuales de filiales tempranas (F₃) y aquel estimado en parcelas en estados avanzados (F₇) ($r = 0,52$). La posibilidad de realizar selección temprana en plantas individuales convierte a esta característica en aún más promisorio. Sin embargo, cabe recordar que el CFEm no siempre es un buen estimador del CFE (Slafer et al. 2015; Elia et al. 2016; Pretini et al. 2021a), mientras que el CFEa refleja mejor las variaciones en CFE (Pretini et al. 2020a). Más allá de estas diferencias, si bien factible, la medición del CFEm resulta tediosa y difícil de implementar en programas de

mejoramiento de mediana o gran escala (Slafer et al. 2015), mientras que la medición del CFE y el CFEa es impracticable debido a su naturaleza destructiva y el tiempo y mano de obra requeridos para realizarla. Por ello, contar con marcadores moleculares que permitan una rápida selección facilitaría su utilización real en los programas de mejoramiento mediante el incremento de las frecuencias de los alelos favorables en las poblaciones segregantes.

El avance en trigo en marcadores moleculares, mapas y herramientas genómicas durante los últimos años ha sido muy importante, permitiendo en la actualidad identificar QTL asociados a caracteres relativamente complejos (Snape et al. 2007). Un QTL (del inglés *Quantitative Trait Locus*) es un locus cuya variación alélica se encuentra asociada a la variación de un carácter cuantitativo. El mapeo de QTL consiste principalmente en cinco pasos: (I) generar una población de mapeo, (II) identificar los marcadores moleculares polimórficos en la población, (III) realizar un análisis de ligamiento de los marcadores moleculares y confeccionar un mapa genético, (IV) realizar una evaluación fenotípica de todos los individuos de la población de mapeo y, (V) realizar un análisis de correlación entre los valores promedio de los caracteres fenotípicos y los diferentes marcadores moleculares (Collard 2005).

La identificación de QTL permitiría realizar selección asistida por marcadores (MAS, del inglés *Marker assisted selection*) (Snape et al. 2007) acelerando el proceso de mejora y disminuyendo los costos que implica avanzar un alto número de líneas hasta parcelas de rendimiento dentro de los programas de mejoramiento (Fischer 2007). Sin embargo, para comprender mejor las bases genéticas se deben tener en cuenta los patrones de dominancia, epistasis y pleiotropía de los QTL detectados. Tanto la dominancia como la epistasis se comprenden como la desviación del efecto genotípico de la suma de todos

los efectos de locus individuales subyacentes al rasgo, basado en un modelo aditivo lineal (Falconer 1989). Mientras que se dice que un gen es pleiotrópico cuando afecta a más de una característica, es decir, la localización de múltiples QTL en una misma región afectando a diferentes características, y podría ser un indicativo de la presencia de un locus simple con efecto pleiotrópico en distintos caracteres (Roncallo et al. 2017).

Durante los últimos años se han generado muchas publicaciones en trigo sobre la detección de QTL para rendimiento y caracteres asociados (Kato et al. 2000; Börner et al. 2002; Jantasuriyarat et al. 2004; Cuthbert et al. 2008; Wang et al. 2009; Ding et al. 2011; Tang et al. 2011; Cui et al. 2012; Wu et al. 2012; Xu et al. 2014; Gao et al. 2015; Li et al. 2015; Chen et al. 2017; Deng et al. 2017; Zhai et al. 2017; Zhou et al. 2017; Guan et al. 2018; Guo et al. 2018; Li et al. 2018; Ma et al. 2018; Sukumaran et al. 2018; Yu et al. 2018; Fan et al, 2019; Pang et al. 2020). Sin embargo, todos ellos identifican atributos numéricos de la generación del rendimiento sin considerar en forma conjunta un modelo ecofisiológico que considere las relaciones de crecimiento y partición de asimilados entre las diferentes estructuras del cultivo. Considerar estas relaciones es importante porque el mero análisis de componentes numéricos suele llevar a compensaciones, lo cual puede reducir o eliminar el beneficio de mejorar alguno de ellos (por ejemplo, compensaciones número de granos por espiga vs espigas por m^{-2} , Gaju et al. 2009; Dreccer et al. 2009, 2013). La población genética utilizada para la identificación de QTL es muy importante, porque permite disminuir o aumentar posibles efectos confundidos. Por ello en esta tesis se trabajó con dos poblaciones HD derivadas del cruzamiento de padres contrastantes para CFE, pero similares en otras características que impactan en el rendimiento (ciclo a antesis, altura, PCE -estimado como duración del período de encañazón-, PSE m^{-2} , y número de espigas m^{-2} , Terrile et al. 2017) de forma de disminuir posibles efectos

confundidos. También se estudió previamente que la línea parental de mayor CFE efectivamente resultara en mayor $NG\ m^{-2}$ en un amplio rango de ambientes que aquella seleccionada por bajo CFE (por ejemplo, entre 8.000 y 22.000 granos m^{-2} , rango de índice ambiental, Terrile et al. 2017). Por otro lado, la baja estabilidad de los QTL entre ambientes y fondos genéticos y en general su efecto menor, particularmente en características cuantitativas, dificultan su efectivo uso en mejoramiento (Bernardo 2008; Xu y Crouch 2008). Por ello, esta tesis busca QTL estables (entre ambientes) y mayores en dos poblaciones HD. Al inicio de este trabajo no había publicaciones que identificaran QTL asociados al coeficiente de fertilidad de la espiga.

La presente tesis tiene como uno de sus objetivos identificar QTL asociados al CFE, CFEm y CFEEa (y atributos asociados de estructura y fertilidad de espiga), en un amplio rango de condiciones ambientales (parcelas de campo y macetas, diferentes años y localidades) en dos poblaciones haploides duplicadas adaptadas a la Pampa Ondulada. Para ello, se construyó un mapa genético de ligamiento para luego identificar los posibles QTL y validar posteriormente aquellos más promisorios. Considerando las posibles compensaciones planteadas previamente entre el coeficiente de fertilidad de la espiga y el peso de la espiga en anthesis y el peso de granos a cosecha, los efectos pleiotrópicos de los QTL identificados y validados sobre dichas características son también evaluados en este trabajo.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es profundizar el estudio de aspectos fisiológicos y genéticos aun no explorado del coeficiente de fertilidad de la espiga, una

característica promisoría para la mejora del rendimiento potencial en trigo. Entre dichos aspectos se contempla:

- a) La relación entre el coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga.
- b) Las bases genéticas y moleculares del coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga.
- c) Los efectos pleiotrópicos de los QTL más relevantes detectados para el coeficiente de fertilidad sobre el peso de la espiga en anthesis, el peso medio de los granos y el rendimiento de la espiga en madurez.

1.2.2. Objetivos específicos

- (i) Comprender la relación entre el coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga tanto en anthesis como en madurez, y estimar la heredabilidad en sentido estricto de estos componentes.
- (ii) Identificar QTL para los diferentes coeficientes de fertilidad de espiga (CFEa, CFE y CFEm).
- (iii) Validar los QTL más promisorios para el coeficiente de fertilidad de espiga en poblaciones independientes y cuantificar su grado de dominancia y efectos epistáticos.
- (iv) Estimar los efectos pleiotrópicos de los QTL validados sobre los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, el peso de espiga en anthesis, el peso de grano y el rendimiento de la espiga.
- (v) Identificar QTL para los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, el peso de espiga en anthesis y el peso de grano.

- (vi) Determinar las relaciones epistáticas entre los QTL detectados para los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, peso de espiga en antesis y peso de grano.

1.3. Hipótesis

- (i) Las espigas con mayor coeficiente de fertilidad poseen menor longitud (LE) y son más compactas (menor CN), que aquellas con menor coeficiente de fertilidad. Al ser más cortas y compactas, invierten menor materia seca en componentes estructurales (PSE). Como consecuencia de ello, el número de flores fértiles por espiguilla es mayor, incrementado de esta forma el número de flores fértiles por espiga.
- (ii) Los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga poseen heredabilidad moderada a alta.
- (iii) Existen regiones genómicas o QTL con efecto mayor y estable sobre el CFEa y CFE que pueden ser detectados también a cosecha (CFEm).
- (iv) Existe al menos un QTL para CFEa y/o CFE y/o CFEm posible de ser validado en una población independiente, permitiendo la estimación de su relación de dominancia.
- (v) El QTL más promisorio que incrementa el CFEa y/o CFE aumenta la fertilidad de las espiguillas (siguiendo el procedimiento planteado en la hipótesis i), reduce el peso seco de la espiga en antesis e incrementa el rendimiento por espiga a pesar de disminuir el peso de los granos.
- (vi) Existen regiones genómicas o QTL para los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, el peso de espiga en antesis y el peso de

grano.

- (vii) Existen interacciones epistáticas entre los QTL detectados para componentes estructurales y numéricos de la fertilidad, PSE y peso de grano.

1.4. Síntesis de la estructura de la tesis

La presente tesis posee 7 Capítulos. El Capítulo I presenta una Introducción General y los Capítulos V y VI la Discusión General y la Bibliografía, respectivamente. El último Capítulo (VII) presenta la información Suplementaria mencionada a lo largo de la tesis. Los Capítulos II, III y IV constan de los resultados que responden a los objetivos e hipótesis planteados. Parte de los resultados del Capítulo II se encuentran publicados en Pretini N, Terrile II, Gazaba LN, Donaire G, Arisnabarreta S, Vanzetti LS, González. 2020a. A comprehensive study of spike fruiting efficiency in wheat. *Crop Science*, 60:1541-1555, cubriendo el objetivo específico (i). El Capítulo III se encuentra publicado en Pretini N, Vanzetti LS, Terrile II, Börner A, Plieske J, Ganal M, Röder M, González FG. 2020b. Identification and validation of QTL for spike fertile floret and fruiting efficiencies in hexaploidy wheat (*Triticum aestivum L.*). *Theoretical and Applied Genetics*, 133:2655–2671, cubriendo los objetivos específicos (ii), (iii) y (iv). Una tercera publicación correspondiente al Capítulo IV da cumplimiento a los objetivos específicos (v) y (vi), en Pretini N, Vanzetti LS, Terrile II, Donaire G, González FG. 2021b. Mapping QTL for spike fertility and related traits in two doubled haploid wheat (*Triticum aestivum L.*) populations. *BMC Plant Biology*, 21, 353. Finalmente, parte del Capítulo VI de Discusión General ha sido publicado en Pretini N, Alonso MP, Vanzetti LS, Pontaroli AC, González FG. 2021a. The physiology and genetics behind fruiting efficiency in

wheat, a promising spike trait to improve wheat yield potential. *Journal of Experimental Botany*, 72 (11), 3987-4004.

**CAPÍTULO II: Relación del coeficiente de fertilidad con los componentes
estructurales y numéricos de la fertilidad de espiga**

2.1. Introducción

De acuerdo con lo mencionado en el Capítulo previo, no existen trabajos que hayan estudiado la relación entre el coeficiente de fertilidad en antesis (CFEa) y los componentes estructurales (LE, CN y PSE) y numéricos de la fertilidad de la espiga (NET, NEF, FFEF). Por otro lado, sólo un trabajo previo (Abbate et al. 1998) abordó el estudio de la partición de asimilados entre los componentes estructurales de la espiga, estudiando un reducido número de cultivares (seis). Este Capítulo aborda el estudio de dicha relación, y también presenta los valores de heredabilidad en sentido estricto de dichos componentes estructurales y numéricos, comparándolos con los valores ya reportados para el CFEa, CFE y CFEm en Pretini et al. (2020a). De esta forma el presente Capítulo cubre el Objetivo específico (i) y las Hipótesis (i) y (ii).

Previo al abordaje específico de los objetivos, se presenta el comportamiento general (rendimiento, número de granos m^{-2} , peso medio de los granos) y el rango de variación fenotípica de las características estudiadas de las dos poblaciones HD utilizadas en este trabajo.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Material vegetal

Se utilizaron dos poblaciones haploides duplicadas (HD) que fueron especialmente diseñadas para estudiar el coeficiente de fertilidad de espiga en el ambiente objetivo de selección (González et al. 2011). Las poblaciones derivan del cruzamiento entre Baguette 19 \times BioINTA 2002 (B19xB2002, $n = 102$) y Baguette Premium 11 \times BioINTA 2002 (BP11xB2002, $n = 81$). Estas líneas parentales son cultivares comerciales

de alto rendimiento y se encuentran bien adaptadas al norte de la provincia de Buenos Aires y al sur de la provincia de Córdoba (es decir, la región central de la zona productora de trigo de Argentina). Baguette Premium 11 (BP11) y Baguette 19 (B19) (pedigrí no disponible) son cultivares de trigo duro semi-enanos lanzado por Nidera Semillas en 2004 y 2006 en Argentina, respectivamente. BioINTA 2002 (B2002) (BPON / CCTP-F7-7792-122 (87)) es un cultivar de trigo duro semi-enano desarrollado por el CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo), liberado comercialmente en 2006 por INTA en Argentina. Como se mencionó en el Capítulo I, estos cultivares fueron identificados como contrastantes para CFEm por González et al. (2011b) y para CFE por Terrile et al. (2017) (B19 y BP11 poseen alto CFE mientras que B2002 posee bajo CFE). En cambio, son similares para otras características que impactan en el rendimiento como tiempo a antesis, duración de la etapa de encañazon, PSE m⁻², altura, y número de espigas m⁻². Los tres cultivares se caracterizan por presentar espigas aristadas. Las poblaciones HD se desarrollaron mediante cultivo in vitro de anteras (De Buyser y Henry 1980) a partir de los gametos F₂ generados. BP11, B19 y B2002 son cultivares primaverales (BP11 y B19: *Vrn-A1b/vrn-B1/vrn-D1*; B2002: *vrn-A1/Vrn-B1/vrn-D1*) y mayormente insensibles al fotoperíodo (*Ppd-D1a*).

2.2.2. Experimentos y condiciones generales

Las poblaciones se sembraron en cinco (B19xB2002) o cuatro (BP11xB2002) ambientes (Cuadro 1). Los ambientes E1 a E4 fueron experimentos a campo en el área central de producción de trigo en Argentina, con fechas de siembra dentro de las óptimas para la región. Los experimentos se realizaron en las EEA Pergamino (33° 51' S, 60° 56' O) y Marcos Juárez (32° 43' S, 62° 06' O) del INTA (Instituto Nacional de Tecnología y

Ganadería Agropecuaria, Argentina). El ambiente E5 fue una contraestación de verano en invernadero, donde las plantas se trasplantaron durante el mes de febrero después de una vernalización artificial en cámara fría (20 días a 5°C, 8 hs de fotoperíodo). Este ambiente no agronómico se planificó para aumentar en gran medida el rango de ambientes explorados. Se aplicó riego complementario, alta fertilización (> 20 ppm P₂O₅ y 200 kg N/ha) y control químico de malezas, plagas y enfermedades para prevenir los estreses hídricos y nutricionales y bióticos, respectivamente.

Cuadro 1. Ambientes utilizados para el fenotipado de B19xB2002 y BP11xB2002. Se presentan fechas de siembra y antesis para cada ambiente.

Amb.	Estación experimental	Año	Población HD	Fecha de siembra	Fecha de antesis²
E1	EEA Pergamino	2012	B19xB2002	08-Jun	23-Oct (±6 días)
			BP11xB2002	06-Jun	24-Oct (±4 días)
E2	EEA Pergamino	2013	B19xB2002	19-Jun	26-Oct (±4 días)
			BP11xB2002	19-Jun	25-Oct (±4 días)
E3	EEA Pergamino	2015	B19xB2002	11-Jun	20-Oct (±6 días)
			BP11xB2002	11-Jun	22-Oct (±6 días)
E4	EEA Marcos Juárez	2015	B19xB2002	10-Jun	11-Oct (±5 días)
			BP11xB2002	10-Jun	12-Oct (±6 días)
E5	EEA Pergamino	2016	B19xB2002	23-Feb ¹	02-May (±23 días)

¹fecha de trasplante después de 20 días de vernalización en cámara fría.

²media ± desvío estándar.

En E1 a E4, las líneas dentro de cada población se organizaron en un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con dos repeticiones. Las parcelas consistieron en (i) dos surcos de 1 m de largo, espaciados a 0,21 m en E1 (190 plantas m⁻²), y (ii) cinco

surcos de 2 m de largo, espaciadas a 0,21 m en E2 a E4 (E2: 330 plantas m^{-2} , y E3-E4: 280 plantas m^{-2}). En E5, se trasplantaron cinco plantas por maceta (5 l de capacidad, llenas de tierra negra) y seis macetas por línea en un DCA. Las macetas se reacomodaron cada 10 días dentro del invernadero para evitar efectos bordura.

2.2.3. Mediciones y análisis

Cuando cada parcela en E2 y E3 alcanzó la etapa de antesis (Z6.1, Zadoks et al. 1974) se muestrearon 0,5 m de un surco central y las espigas se separaron del resto de la biomasa (Figura 3). Las espigas se ordenaron desde la más corta a la más larga, y las tres espigas medianas se seleccionaron para contar el número de flores fértiles y rasgos asociados (ver el párrafo siguiente). El resto de las espigas se secaron en estufa eléctrica a 70°C para estimar el peso seco de las espigas en antesis por unidad de área (PSE m^{-2} , g m^{-2}) (Figura 3). En E1 se cortaron cinco espigas del estrato más representativo del canopeo, mientras que en E5 se seleccionaron las espigas del tallo principal de tres plantas/maceta y tres macetas para el recuento de flores fértiles (es decir, 9 espigas). En E4 no se realizaron mediciones en antesis.

Para cada espiga seleccionada, se midió su longitud desde la base de la primera espiguilla hasta la parte superior de la espiguilla terminal (LE - longitud de la espiga, mm) con un calibre electrónico y se contó el número total de espiguillas (NET). La compactación de la espiga (CN, mm de raquis por espiguilla) se calculó dividiendo la LE por el NET. El número de flores fértiles (anteras amarillas visibles o estado floral > 9.5 en la escala de Waddington et al. 1983) se contó de un lado de la espiga ("a") y en la espiguilla terminal ("t") usando una lupa binocular. El número de flores fértiles por espiga (FF) se estimó multiplicando el valor "a" por 2 y sumando el valor "t". El número de

espiguillas fértiles (NEF) se estimó a partir del recuento de FF como el número de espiguillas con al menos una flor fértil, multiplicado por 2 y sumando uno si la espiguilla terminal era fértil. Las espigas se secaron en estufa eléctrica con circulación de aire forzado (70°C) para estimar el peso seco de las espigas en antesis individual, es decir sólo de las espigas seleccionadas (PSE). El coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (CFEa) se calculó como la relación entre FF y PSE (Figura 3) para las espigas seleccionadas.

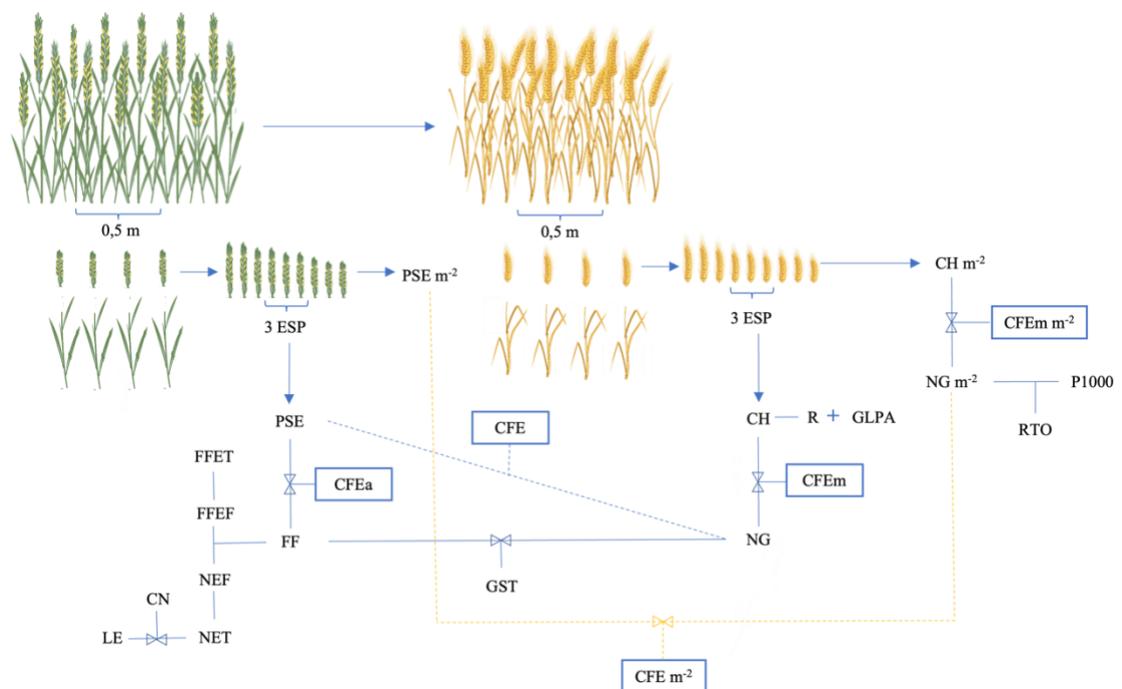


Figura 3. Esquema de muestreos en antesis (en E2 y E3) y cosecha (en E2, E3, y E4) PSE: peso seco de espiga en antesis, FF: flores fértiles, CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga, FFET: flores fértiles por espiguillas totales, FFEF: flores fértiles por espiguillas fértiles, NEF: número de espiguillas fértiles, NET: Número de espiguillas fértiles, LE: longitud de espiga, CN: compactación, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, GST: cuaje o *grain set*, CH: peso seco de espiga en madurez sin granos por espiga, R: raquis, GLPA: gluma+lema+palea+arista, NG: número de granos por espiga, CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez, CH m²: peso seco de espiga en madurez sin granos por metro cuadrado, NG m²: número de granos por metro cuadrado, CFEm m²: coeficiente de fertilidad de espiga por metro cuadrado, CFE m²: coeficiente de fertilidad de espiga por metro cuadrado, PG: peso medio de granos, P1000: peso medio de 1000 granos, RTO m²: rendimiento m², RTO: rendimiento por espiga.

En madurez, las espigas de otros 0,5 m de una hilera central se cortaron del resto de la planta en E2, E3 y E4 (Figura 3). Se seleccionaron tres espigas siguiendo el mismo procedimiento aplicado en antesis. Luego de secar el resto de las espigas se las trilló a mano para estimar el número de granos por unidad de área ($NG\ m^{-2}$), el peso de mil granos (P1000) y el rendimiento ($RTO\ m^{-2}$, $g\ m^{-2}$) (Figura 3). El coeficiente de fertilidad de espiga se calculó por metro cuadrado ($CFE\ m^{-2}$) como la relación entre $NG\ m^{-2}$ y $PSE\ m^{-2}$ (Figura 3). En E1 y E5 se seleccionaron espigas individuales siguiendo el procedimiento descrito para antesis. Todas las espigas seleccionadas (E1 a E5) se secaron en estufa y se pesaron antes de trillar a mano. Una vez trilladas se pesaron todos los granos y se obtuvo el RTO (por espiga). El número de granos de cada espiga se contó con un contador automático para obtener el número de granos por espiga (NG) y el peso promedio de los granos (PG) se estimó como el RTO/NG . El coeficiente de fertilidad de espiga (CFE) se calculó como la relación entre NG y PSE. El chaff (CH) se calculó como el peso de las espigas antes de la trilla menos el peso de los granos (RTO o $RTO\ m^{-2}$) de las espigas seleccionadas ($CH\ g\ espiga^{-1}$) y de la parcela ($CH\ m^{-2}$). Una vez pesado el CH se procedió a separar y pesar el raquis (R) por un lado y la gluma, lema, patea y aristas (GLPA) por otro (Figura 3). El coeficiente de fertilidad de espiga en madurez se calculó a nivel de espiga individual ($CFEm$) como la relación entre NG y CH, y también por metro cuadrado ($CFEm\ m^{-2}$) como la relación entre $NG\ m^{-2}$ y $CH\ m^{-2}$. El GST se estimó como la relación NG/FF (Figura 3).

Para probar la distribución normal de las poblaciones se realizaron las pruebas de Shapiro-Wilks modificado por Mahibbur y Govindarajulu (1997) y los Q-Q para cada ambiente. También se estudió la relación entre estas distribuciones y el valor de las líneas

parentales. Además, utilizando el programa R v.3.3.4 se calcularon los valores BLUE (del inglés *Best Linear Unbiased Estimator*) para cada línea HD, incluidos todos los ambientes probados como variable aleatoria. Para determinar las relaciones entre los caracteres se analizaron las correlaciones de Pearson con sus valores BLUE.

La heredabilidad en sentido estricto se calculó como:

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GE}^2}{E} + \frac{\sigma_{RES}^2}{ER}}$$

Donde σ_G^2 es la varianza genotípica (aditiva), σ_{GE}^2 es la varianza de interacción GxE, E es el número de ambientes, R es el número de repeticiones y σ_{RES}^2 es la varianza del error (Hallauer y Miranda 1981). Para todos los análisis se utilizó el software Infostat/p (Di Rienzo et al. 2016).

2.3. Resultados

La radiación fotosintéticamente activa (PAR, del inglés *Photosynthetically active radiation*) y la temperatura aumentaron en E1 a E4 y disminuyeron en E5 durante el ciclo del cultivo (Cuadro 2). Los ambientes E1 y E2 fueron más fríos que E3 y E4 durante junio, julio y agosto, mientras que la temperatura fue muy similar durante septiembre, octubre y noviembre, excepto para E3 durante octubre que fue 2-3°C más frío (Cuadro 2). La lluvia acumulada durante el ciclo de crecimiento para E1 y E3 fue alta (> 700 mm) mientras que para E2 y E4 estuvo cerca de los valores históricos para la región (350-400 mm) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Condición de crecimiento para cada ambiente. Temperatura media, lluvia + riego y radiación fotosintéticamente activa (PAR) durante el ciclo de crecimiento.

	Ambiente	Mes					
		Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre
Temperatura (°C)	E1	9,8	5,8	10,9	14,3	16,8	20,6
	E2	9,9	9,8	9,9	13,2	17,6	20,3
	E3	12,1	10,8	13,6	13,6	14,6	19,2
	1967-2015 PE ¹	10,2	9,7	11,3	13,4	16,6	19,5
	E4	13,5	11,9	14,3	14,9	20,8	20,9
	1967-2015 MJ ²	10,8	10,4	12,1	14,6	18,0	20,9
	Lluvias + Riego (mm)	E1	4	9	230	79	301
E2 ³		7	28	28	57	62	172
E3 ⁴		54	67	262	62	119	195
1967-2015 PE		37	36	42	55	106	104
E4 ⁵		6	45	94	23	48	193
1967-2015 MJ		20	23	20	46	95	109
PAR (Mj m ⁻²)		E1	21	149	140	183	223
	E2	112	118	187	172	255	281
	E3	118	136	156	191	208	267
	E4	117	120	140	200	247	278
Temperatura (°C)		Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	
	E5	25,2	22,9	20,5	17,2	10,9	
PAR (Mj m ⁻²)	E5	313	251	128	114	105	

¹PE: datos históricos de EEA Pergamino.

²MJ: datos históricos de EEA Marcos Juárez.

³El riego durante agosto fue de 26 mm y durante septiembre de 25 mm.

⁴No se realizó riego a pesar de las escasas lluvias (ej., septiembre) porque la napa de agua se encontraba a < 1 m de profundidad durante el ciclo de crecimiento.

La fecha media de antesis ocurrió durante el mes de octubre y estuvo muy concentrada dentro de cada población excepto en el ambiente no agronómico E5 donde la fecha media de antesis fue el 2 de mayo y la desviación estándar de su duración fue de

23 días (Cuadro 1). La alta precipitación durante octubre de 2012 (Cuadro 2, E1) resultó en una alta infección por tizón de la espiga causada por *Fusarium* sp. a pesar de las aplicaciones de fungicidas. Entonces, sólo se consideraron para este trabajo los datos de antesis y los valores de CH, R y GLPA de E1 (no se tuvieron en cuenta los granos).

2.3.1. Rendimiento y variación del número de granos

Considerando todos los ensayos a campo, el rendimiento varió de 216 a 1.079 g m⁻² y de 138 a 869 g m⁻² en B19xB2002 y BP11xB2002, respectivamente (Figura 4). La mayor parte de este rango de variación fue consecuencia de las diferencias genotípicas entre las líneas. La correlación del rendimiento con el NG m⁻² fue alta ($r > 0,74$, $p < 0,0001$) tanto para las variaciones genotípicas entre las líneas dentro de ambientes como a través de ambientes (es decir, considerando todos los datos en conjunto) (Figura 4).

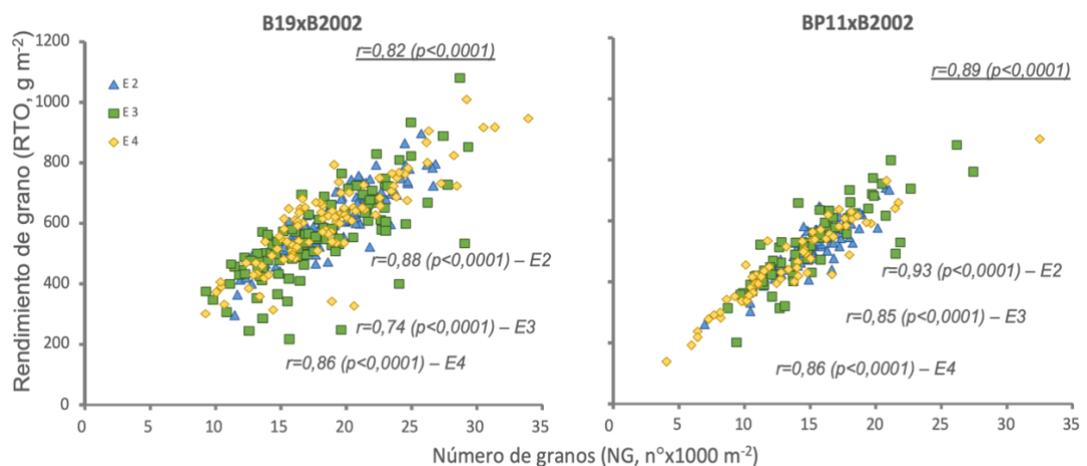


Figura 4. Diagrama del crecimiento y desarrollo del cultivo de trigo desde siembra hasta madurez fisiológica, con detalle de estructuras formadas, cambios morfológicos externos y definición de componentes del rendimiento, según etapas del desarrollo. PCE: Período de Crecimiento de la Espiga. Las líneas verticales indican el

2.3.2. Número de granos, coeficiente de fertilidad de espiga y peso seco de la espiga en antesis

El número de granos por metro cuadrado (NG m^{-2}) estuvo altamente correlacionado con el coeficiente de fertilidad de espiga medido a nivel de área (CFE m^{-2}) para ambos ambientes donde fue probado (E2 y E3, recordar que no hubo mediciones en antesis en E4 ni de cosecha en E1) y para ambas poblaciones ($r > 0,57$, $p < 0,0001$), excepto para BP11xB2002 en E2 ($r = 0,20$, $p = 0,0830$). El peso seco de la espiga en antesis por unidad de área (PSE m^{-2}) varió entre 50 y 289 g m^{-2} en B19xB2002 y entre 76 y 300 g m^{-2} en BP11xB2002, considerando ambos ambientes E2 y E3. A pesar de esta variación, el NG m^{-2} no estuvo correlacionado con el PSE m^{-2} , considerando ambas poblaciones, excepto para BP11xB2002 en E3, donde explicó un 24% de la variación en el NG m^{-2} ($r = 0,24$, $p = 0,0470$). El NG m^{-2} , a su vez, se correlacionó significativamente con el número de granos producidos por espiga (NG) para ambas poblaciones y en los tres ambientes donde se probó a nivel de parcela ($r = 0,35$ en E2, $r = 0,41$, en E3 y $r = 0,45$ en E4, para B19xB2002; y $r = 0,46$ en E2, $r = 0,54$ en E3, y $r = 0,56$ en E4, para BP11xB2002, $p < 0,0001$ en todos los casos). Por su parte el CFE m^{-2} también estuvo correlacionado positivamente con el CFE (medido a nivel de espiga) para ambas poblaciones y ambientes testeados ($r = 0,40$ en E2 y $r = 0,27$ en E3, para B19xB2202 y $r = 0,38$ para E2 en BP11 x B2002, $p < 0,001$ para todos los casos), excepto en E2 en BP11xB2002 ($r = 0,11$ $p = 0,35$).

Todas las variables estudiadas a nivel de espiga presentaron una distribución normal (Cuadro Suplementario S1). El número de granos por espiga ($\text{NG}^{(2)}$) varió entre

⁽²⁾Las medias poblacionales de todas las características a nivel de espiga se presentan en esta sección. Para obtener datos más detallados, consulte el Cuadro Suplementario S1.

18,0 ± 5,6 y 56,4 ± 7,7 (E5 a E3) para B19xB2002 y entre 31,3 ± 4,9 y 49,9 ± 10,1 (E2 a E3) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). Para ambas poblaciones, el NG se vio afectado por el ambiente y el genotipo, pero no por la interacción GxE, mostrando una heredabilidad en sentido estricto de moderada a alta (Cuadro 3). El CFE varió entre 105 ± 38 y 143 ± 30 granos g PSE⁻¹ (E5 a E3) para B19xB2002 y entre 114 ± 20 y 138 ± 28 granos gPSE⁻¹ (E2 a E3) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). El ambiente explicó aproximadamente 15% de su variación (para ambas poblaciones) mientras que el genotipo mostró un mayor impacto variando entre 36 (B19xB2002) y 26% (BP11xB2002) (Cuadro 3). La interacción GxE afectó el CFE en BP11xB2002 (variación del 27%) mientras que no fue significativa para B19xB2002 (p = 0,2354) (Cuadro 3). La heredabilidad en sentido estricto del CFE fue alta para B19xB2002 (0,61), mientras que no fue relevante para BP11xB2002 (Cuadro 3).

El PSE varió entre 0,19 ± 0,06 y 0,59 ± 0,06 g espiga⁻¹ (E5 a E1) para B19xB2002 y entre 0,28 ± 0,04 y 0,58 ± 0,06 g espiga⁻¹ (E1 a E2) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). El ambiente explicó la mayor parte de las diferencias en PSE, aproximadamente 80% de la variación, mientras que el genotipo y la interacción GxE explicaron 6 y 8% de la variación, respectivamente, lo que resulta en una heredabilidad en sentido estricto moderada (0,33-0,36) (Cuadro 3). Las tres variables (NG, CFE y PSE) mostraron segregación transgresiva (Cuadro Suplementario S1).

Cuadro 3. Porcentaje de la variación total (considerando la suma de cuadrados) explicada por el ambiente (E), el genotipo (G) y la interacción GxE; y heredabilidad en sentido estricto (h^2) para: número de granos por espiga (NG), coeficiente de fertilidad de espiga (CFE), peso seco de espiga en antesis (PSE), coeficiente de fertilidad de espiga en madurez (CFEm), chaff de la espiga en madurez (CH), raquis (R), gluma + lema + palea + arista (GLPA), flores fértiles por espiga en antesis (FF), coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (CFEa) y cuaje (GST), en B19xB2002 y BP11xB2002.

	Ambiente ^a	Carácter	E	G	GXE	h^2	
B19xB2002	1, 2, 3, 5	NG	76,0 <0,0001	7,0 <0,0001	8,4 0,1274	0,54	
	2, 3, 5	CFE ^b	14,7 <0,0001	35,8 <0,0001	23,4 0,2354	0,61	
	1, 2, 3, 5	PSE	80,0 <0,0001	5,6 <0,0001	8,0 <0,0001	0,36	
	2, 3, 4, 5	CFEm ^b	59,3 <0,0001	15,7 <0,0001	13,8 0,0004	0,63	
	2, 3, 4, 5	CH	73,6 <0,0001	6,2 <0,0001	10,0 0,0868	0,50	
	1, 2, 3, 5	FF	71,5 <0,0001	9,5 <0,0001	10,1 0,0032	0,52	
	1, 2, 3, 5	CFEa ^b	79,9 <0,0001	5,6 <0,0001	8,0 <0,0001	0,52	
	2, 3, 5	GST	27,0 <0,0001	17,4 0,0225	18,9 0,8094	0,43	
	BP11xB2002	2, 3, 4	NG	41,3 <0,0001	22,5 <0,0001	16,5 0,0844	0,59
		2, 3	CFE ^b	15,7 <0,0001	25,8 0,0765	27,3 0,0194	- ^c
1, 2, 3		PSE	77,0 <0,0001	6,5 <0,0001	7,9 0,0216	0,33	
2, 3, 4		CFEm ^b	27,0 <0,0001	28,3 <0,0001	22,0 0,044	0,56	
1, 2, 3, 4		CH	57,0 <0,0001	14,1 <0,0001	16,8 <0,0001	0,48	
1, 2, 3		FF	31,3 <0,0001	28,9 <0,0001	19,8 0,0066	0,60	
1, 2, 3		CFEa ^b	63,1 <0,0001	13,3 <0,0001	10,2 0,2096	0,57	
2, 3		GST	28,9 <0,0001	18,2 0,4854	23,1 0,0405	- ^c	

^aAmbientes donde se fenotiparon las características.

^bLa heredabilidad de CFE, CFEm y CFEa fueron reportados previamente en Gazaba (2018) y publicadas en conjunto en Pretini et al. (2020a).

^cCuadrado medio del error > cuadrado medio de genotipo.

De manera similar a los resultados observados a nivel de área, en ambas poblaciones, las variaciones del número de granos por espiga (NG) entre líneas dentro de ambiente y a través de ambientes estuvieron altamente correlacionado con el CFE (Cuadro 4). No obstante, se observó diferente NG para el mismo valor de CFE debido a diferencias en PSE (Cuadro 4). En forma contraria a lo observado para el CFE, el NG se correlacionó en forma moderada con el PSE para los genotipos dentro de ambientes sólo en BP11xB2000, mientras que tuvo una alta correlación a través de ambientes para ambas poblaciones (Cuadro 4).

Cuadro 4. Relación del número de granos por espiga (NG) con el coeficiente de fertilidad de espiga (CFE) y el peso seco de la espiga en anthesis (PSE). Se indican las correlaciones de Pearson y el valor p para los genotipos dentro de cada ambiente. Se presentan ambas poblaciones. Tomada de Gazaba (2018) y publicado en Pretini et al. (2020a).

		NG			
		Ambientes			
	Carácter	E2	E3	E5	Conjunto
B19xB2002	CFE	0,58	0,57	0,62	0,60
		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	PSE	0,08	0,07	0,12	0,78
		0,4974	0,4517	0,2505	< 0,0001
BP11xB2002	CFE	0,72	0,62		0,71
		< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001
	PSE	0,24	0,42		0,66
		0,0343	0,0001		< 0,0001

2.3.3. Coeficiente de fertilidad de espiga en madurez y chaff

El CFEm varió entre 70 ± 24 y 136 ± 19 granos $g\ CH^{-1}$ (E5 a E2) en B19xB2002 y entre 84 ± 12 y 114 ± 16 granos $g\ CH^{-1}$ (E3 a E2) en BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). El ambiente, el genotipo y la interacción GxE afectaron el valor de CFEm para ambas poblaciones (Cuadro 3). La variación porcentual de CFEm explicada por el ambiente fue alta en B19xB2002 (aprox. 60%) mientras que el genotipo y GxE explicaron aproximadamente 15% cada uno (Cuadro 3). Para BP11xB2002, el impacto fue muy similar para las tres fuentes de variación, de aproximadamente 25% cada uno (Cuadro 3). Sin embargo, la heredabilidad en sentido estricto fue alta (0,52-0,56) para ambas poblaciones (Cuadro 3). El peso del CH varió de $0,27 \pm 0,04$ a $0,66 \pm 0,10$ $g\ espiga^{-1}$ (E2 a E3) y de $0,28 \pm 0,04$ a $0,60 \pm 0,13$ $g\ espiga^{-1}$ (E2 a E3) para B19xB2002 y BP11xB2002, respectivamente (Cuadro suplementario S1). De manera similar al PSE, el ambiente explicó la mayor parte de la variación del CH para ambas poblaciones (60-73%), mientras que el impacto del genotipo y de la interacción GxE fue menor ($< 15\%$) (Cuadro 3) y la heredabilidad en sentido estricto fue moderada en ambas poblaciones. Tanto el CFEm como el CH mostraron segregación transgresiva (Cuadro Suplementario S1).

La correlación entre el NG y el CFEm fue menor que la correlación entre el NG y el CFE. Para B19xB2002, la correlación varió de 0,31 a 0,66 dentro de los ambientes (Cuadro 5), siendo sólo 0,20 cuando se consideraron todos los datos juntos. Para BP11xB2002, fue incluso menor, no sólo para los valores de correlación de genotipos dentro de los ambientes, sino también entre ambientes, donde el NG mostró una correlación negativa con el CFEm (Cuadro 5). El CH mostró una alta correlación con el NG en ambas poblaciones, explicando la variación de los genotipos dentro de los

ambientes (excepto para E5 en B19xB2002) y cuando todos los datos se consideraron juntos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Relación entre el número de granos por espiga (NG) y el coeficiente de fertilidad de espiga en madurez (CFEm) y el peso de la espiga en madurez (CH). Se indican las correlaciones de Pearson y el valor p para los genotipos dentro de cada ambiente. Se presentan ambas poblaciones.

		NG				
		Ambientes				
	Carácter	E2	E3	E4	E5	Conjunto
B19xB2002	CFEm	0,31	0,39	0,51	0,66	0,20
		0,0011	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	CH	0,53	0,50	0,43	0,10	0,79
		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,3301	< 0,0001
BP11xB2002	CFEm	0,45	0,20	0,31		-0,25
		< 0,0001	0,0674	0,0045		< 0,0001
	CH	0,60	0,77	0,45		0,84
		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001

2.3.4. Flores fértiles por espiga y cuaje

El valor de FF varió de $26,7 \pm 4,4$ a $55,6 \pm 8,0$ flores espiga⁻¹ (E5 a E1) en B19xB2002 y de $42,0 \pm 5,1$ a $55,6 \pm 8,1$ flores espiga⁻¹ (E2 a E1) en BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). El valor de FF fue modificado por el genotipo, el ambiente y la interacción GxE en ambas poblaciones (Cuadro 3), mostrando una alta heredabilidad en sentido estricto. El CFEm varió de 94 ± 12 a 149 ± 35 flores g PSE⁻¹ (E1 a E5) y de 96 ± 12 a 152 ± 16 flores g PSE⁻¹ (E1 a E2), para B19xB2002 y BP11xB2002, respectivamente (Cuadro Suplementario S1). El CFEm fue modificado por el ambiente y el genotipo en ambas poblaciones, mostrando un efecto estadísticamente significativo la interacción GxE sólo para B19xB2002 (Cuadro 3). En comparación con las otras dos estimaciones

(CFE y CFEm), el CFEa mostró la menor influencia de la interacción GxE (aproximadamente un 8-10% de la variación fue explicada por la interacción) y la mayor heredabilidad en sentido estricto (0,63-0,58) (Cuadro 3). El GST varió de $0,69 \pm 0,21$ a $1,05 \pm 0,17$ granos flores⁻¹ (E5 a E3) para B19xB2002 y de $0,75 \pm 0,12$ a $0,97 \pm 0,18$ granos flores⁻¹ (E2 a E3) para BP11xB2002. El ambiente afectó al GST en ambas poblaciones (explicando aproximadamente el 28% de la variación), mientras que el genotipo fue estadísticamente significativo sólo en B19xB2002 (17,4%). La interacción GxE modificó el GST en BP11xB2002, pero no tuvo impacto en B19xB2002 (Cuadro 3). La heredabilidad en sentido estricto fue muy diferente según la población, siendo moderada en B19xB2002 y no relevante en BP11xB2002 (Cuadro 3). Los tres caracteres (FF, CFEa y GST) mostraron segregación transgresiva (Cuadro Suplementario S1).

2.3.5. Componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de las espigas

El NET varió de manera similar para ambas poblaciones HD dentro de los ambientes agronómicos: de $16,2 \pm 2,4$ a $23,7 \pm 2,0$ espiguillas totales espiga⁻¹ (E5 a E1) para B19xB2002 y de $21,3 \pm 1,6$ a $23,9 \pm 1,9$ espiguillas espiga⁻¹ (E2 a E1) para BP11xB2002, mientras que el NET más bajo se observó en el ambiente no agronómico (E5, ~ 16 espiguillas por espiga⁻¹, Cuadro Suplementario S1). El NET fue modificado por el ambiente, el genotipo y la interacción GxE, pero mostró una alta heredabilidad en sentido estricto para ambas poblaciones (Cuadro 6). LE varió de $73,4 \pm 8,4$ a $105,8 \pm 10,7$ mm (E5 a E1) para B19xB2002 y de $93,6 \pm 7,4$ a $109,5 \pm 10,6$ (E2 a E1) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). La mayor LE, considerando los ambientes agronómicos (E1 a E3) y ambas poblaciones, se observó en E1 (~ 107 mm), mientras que la menor LE se observó en E2 (~ 93) (Cuadro Suplementario S1). El E5 mostró una LE

incluso más baja que el E2 (~ 73 mm) (Cuadro Suplementario S1). La LE fue afectada por el ambiente, el genotipo y la interacción GxE, pero mostró una alta heredabilidad en sentido estricto para ambas poblaciones (Cuadro 6). La CN varió de $4,4 \pm 0,3$ a $4,6 \pm 0,6$ mm espiguilla⁻¹ (E2 a E5) para B19xB2002 y de $4,4 \pm 0,3$ a $4,6 \pm 0,4$ mm espiguilla⁻¹ (E2 a E1) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). La CN en el E2 fue la más baja para ambas poblaciones (4,4 mm por espiguilla, Cuadro Suplementario S1); mientras que la CN más alta (4,6 mm) dependió del ambiente (siendo la mayor en E1 para BP11xB2002 y en E5 para B19xB2002, Cuadro Suplementario S1). En contraste con el NET y la LE, el impacto del ambiente, aunque estadísticamente significativo, fue menor (aprox. 2-5%), mientras que el del genotipo y la interacción GxE fue mayor, resultando en una alta heredabilidad en sentido estricto (Cuadro 6).

El NEF varió de $11,5 \pm 1,4$ a $20,1 \pm 1,6$ (E5 a E1) espiguillas fértiles espiga⁻¹ para B19xB2002 y de $17,5 \pm 1,5$ a $20,6 \pm 1,6$ (E2 a E1) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). El NEF fue afectado por el ambiente, el genotipo y la interacción GxE, y mostró una alta heredabilidad en sentido estricto para ambas poblaciones (Cuadro 6). El FFEF varió de $2,3 \pm 0,3$ a $2,8 \pm 0,3$ flores por espiguilla fértil⁻¹ (E5 a E3) para B19xB2002 y de $2,4 \pm 0,2$ a $2,7 \pm 0,3$ (E2 a E1) para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). De manera similar a los caracteres anteriores, el FFEF fue modificado por el ambiente, el genotipo y la interacción GxE, mostrando una alta heredabilidad en sentido estricto para ambas poblaciones (Cuadro 6).

El CH varió de $0,27 \pm 0,04$ a $0,66 \pm 0,01$ (E2 a E3) g espiga⁻¹ para B19xB2002 y de $0,28 \pm 0,04$ a $0,60 \pm 0,13$ (E2 a E3) g espiga⁻¹ para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). El ambiente explicó la mayor parte de la variación en ambas poblaciones (56–73%), mientras que el efecto del genotipo y de la interacción GxE fue

menor (< 15%), mostrando una alta heredabilidad en sentido estricto para ambas (Cuadro 6). La partición del CH entre R y GLPA varió del 14 al 22% para el R, y del 78 al 86% para GLPA, dependiendo de la población HD y el ambiente. El R varió de $0,048 \pm 0,013$ a $0,100 \pm 0,016$ (E5 a E3) g espiga⁻¹ para B19xB2002 y de $0,097 \pm 0,019$ a $0,060 \pm 0,010$ (E2 a E3) g espiga⁻¹ para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). Finalmente, el GLPA varió de $0,215 \pm 0,039$ a $0,564 \pm 0,093$ (E2 a E3) g espiga⁻¹ para B19xB2002 y de $0,217 \pm 0,035$ a $0,502 \pm 0,106$ (E2 a E3) g espiga⁻¹ para BP11xB2002 (Cuadro Suplementario S1). En ambas poblaciones, tanto para R como para GLPA, el ambiente explicó la mayor parte de la variación, sin embargo, tanto el genotipo como la interacción GxE también fueron consideradas significativas mostrando una alta heredabilidad en sentido estricto para ambas poblaciones (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de la variación total (considerando la suma de cuadrados) explicada por el ambiente (E), genotipo (G) e interacción GXE; y heredabilidad en sentido estricto (h^2) para: número de espiguillas totales por espiga (NET), longitud de espiga (LE), compactación de espigas (CN), número de espiguillas fértiles por espiga (NEF), flores fértiles por espiguilla fértil (FFEF), peso de raquis (R) y de gluma+lema+palea+arista (GLPA) en madurez en B19xB2002 y BP11x B2002.

	Ambiente ¹	Carácter	E	G	GXE	h^2
B19xB2002	1, 2, 3, 5	NET	67,4 <0,0001	16,1 <0,0001	9,4 <0,0001	0,72
	1, 2, 3, 5	LE	64,0 <0,0001	14,0 <0,0001	10,4 0,0029	0,67
	1, 2, 3, 5	CN	1,8 <0,0001	41,8 <0,0001	28,0 <0,0001	0,69
	1, 2, 3, 5	NEF	79,9 <0,0001	6,5 <0,0001	5,8 0,0909	0,63
	1, 2, 3, 5	FFEF	33,8 <0,0001	27,3 <0,0001	18,1 <0,0001	0,72
	1, 2, 3, 4, 5	R	56,1 <0,0001	14,0 <0,0001	17,5 <0,0001	0,51
	1, 2, 3, 4, 5	GLPA	66,3	10,0	12,2	0,50

			<0,0001	<0,0001	0,0076	
BP11xB2002	1, 2, 3	NET	26,1	52,6	11,7	0,86
			<0,0001	<0,0001	0,0009	
	1, 2, 3	LE	31,2	42,7	13,1	0,81
			<0,0001	<0,0001	0,0069	
	1, 2, 3	CN	5,5	57,8	20,5	0,77
			<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	1, 2, 3	NEF	35,1	34,1	15,3	0,73
			<0,0001	<0,0001	0,0094	
	1, 2, 3	FFEF	14,8	36,9	26,3	0,58
			<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	1, 2, 3, 4	R	40,7	22,2	18,5	0,69
			<0,0001	<0,0001	0,0364	
	1, 2, 3, 4	GLPA	56,3	14,3	17,1	0,50
			<0,0001	<0,0001	<0,0001	

¹ambientes donde los rasgos eran fenotipos

2.3.6. Relación entre el coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la espiga

Para comprender mejor la relación entre los coeficientes de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la espiga se utilizaron los valores BLUE. Los resultados indican que los padres Baguette tienen un mayor número de FF, FFET, FFEF y NG, mientras que B2002 tiene un mayor PSE, LE, NET, CH, R, GLPA y PG. El padre BP11 mostró el valor de NEF más alto y B19 el más bajo, mientras que B2002 tuvo un valor medio (Cuadro 7). Todos los caracteres mostraron una distribución normal en cada ambiente y en los valores BLUE, con una segregación transgresiva de ambas líneas parentales en ambas poblaciones (Cuadro 7, Cuadro Suplementario S1).

Los rangos de valores para las poblaciones BP11xB2002 y B19xB2002 basados en los valores BLUE se encontraron por encima, por debajo o entre el valor de los padres, dependiendo de la característica (Cuadro 7).

Cuadro 7. Medias y desvío estándar de los padres y las poblaciones en base a los valores BLUE para todos los caracteres.

Carácter ^a	Línea Parental			BP11xB2002		B19xB2002	
	B2002	BP11	B19	Media	DE ^b	Media	DE
LE	98,6	93,7	87,2	101,6	7,5	94,0	6,4
NET	22,2	19,6	20,0	22,7	1,6	21,1	1,4
CN	4,8	4,5	4,4	4,5	0,3	4,5	0,4
FF	44,9	52,6	46,6	49,4	5,7	43,9	4,1
NEF	18,0	18,5	16,2	19,0	1,3	17,0	1,0
FFET	2,0	2,4	2,3	2,2	0,2	2,1	0,2
FFEF	2,4	2,8	2,8	2,6	0,2	2,5	0,2
PSE	0,42	0,36	0,36	0,41	0,04	0,37	0,04
R	0,083	0,067	0,061	0,079	0,010	0,072	0,009
GLPA	0,44	0,25	0,35	0,34	0,05	0,36	0,04
CH	0,51	0,32	0,40	0,41	0,05	0,43	0,05
NG	37,4	40,4	39,3	39,8	5,5	38,0	4,2
PG	35,8	31,1	34,0	31,8	3,8	34,6	3,8
GST	0,88	0,83	0,87	0,87	0,10	0,93	0,16
RTO	1,405	1,278	1,271	1,254	0,150	1,250	0,153
CFEa	117,4	149,3	136,0	129,9	10,8	129,2	15,1
CFE	119,9	148,7	125,7	126,1	17,4	123,4	26,0
CFEm	80,6	142,7	98,3	101,5	12,7	95,7	14,3

^aLE: longitud de espiga (mm), NET: número de espiguillas totales por espiga (n° espiga⁻¹), CN: compactación de la espiga (mm raquis por espiguilla⁻¹), FF: flores fértiles por espiga (n° espiga⁻¹), NEF: número de espiguillas fértiles por espiga (n° espiga⁻¹), FFET: flores fértiles por espiguillas totales (n° espiguillas⁻¹), FFEF: flores fértiles por espiguillas fértiles (n° espiguillas⁻¹), PSE: peso seco de espiga en antesis (g espiga⁻¹), R: raquis (g espiga⁻¹), GLPA: gluma+lema+palea+arista (g espiga⁻¹), CH: chaff (peso seco de espiga en madurez sin granos, g espiga⁻¹), NG: número de granos por espiga (n° espiga⁻¹), PG: peso de granos (mg), GST: cuaje de granos, RTO: rendimiento por espiga, CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez.

^bDE: desvío estándar.

^cW: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks modificada por Mahibbur and Govindarajulu (1997).

*cuadrado medio del error > cuadrado medio del genotipo.

Para ambas poblaciones, cuando las espigas son más largas (mayor LE), tienen más espiguillas totales y fértiles por espiga (NET y NEF) distribuidas de manera laxa (más mm entre espiguillas o mayor CN) (Figura 5, Figura 6), lo que resultó en un aumento

de flores fértiles por espiga (FF). Por otro lado, en ambas poblaciones las espigas más largas fueron más pesadas (mayor PSE y CH), variable esta última que mostró una correlación positiva con FF. Estas espigas más largas y pesadas presentaron menor eficiencia para fijar flores fértiles o granos por unidad de peso de la espiga (correlaciones negativas PSE vs CFEa y PSE vs CFE en las Figura 5 y Figura 6). Estas eficiencias se correlacionaron positivamente con la capacidad de las espiguillas para producir flores fértiles (correlación positiva CFEa vs NEF y CFEa vs FFEF) ayudando a aumentar las flores fértiles y granos por espiga (correlación positiva CFEa vs FF y CFE vs NG) (Figura 5, Figura 6). El mayor NG se correlacionó positivamente con el rendimiento de la espiga (RTO), pero se asoció negativamente con el PG, en ambas poblaciones. Mientras tanto, el PG contribuyó positivamente al RTO sólo en una población (BP11xB2002) pero no en la otra (B19xB2002) (Figura 5, Figura 6). Las eficiencias más altas para establecer flores fértiles (CFEa) y granos (CFE) dieron como resultado una mayor eficiencia para establecer el rendimiento por unidad de peso de espiga logrado en la antesis en ambas poblaciones ($r = 0,48$ o $0,19$ para CFEa vs RTO / PSE $p < 0,05$; y $r = 0,81$ o $0,68$ para CFE vs RTO / PSE $p < 0,0001$, en B19xB2002 y BP11x B2002, respectivamente). Estas eficiencias son muy importantes considerando la limitación de asimilados para el crecimiento de la espiga durante el período de pre-antesis.

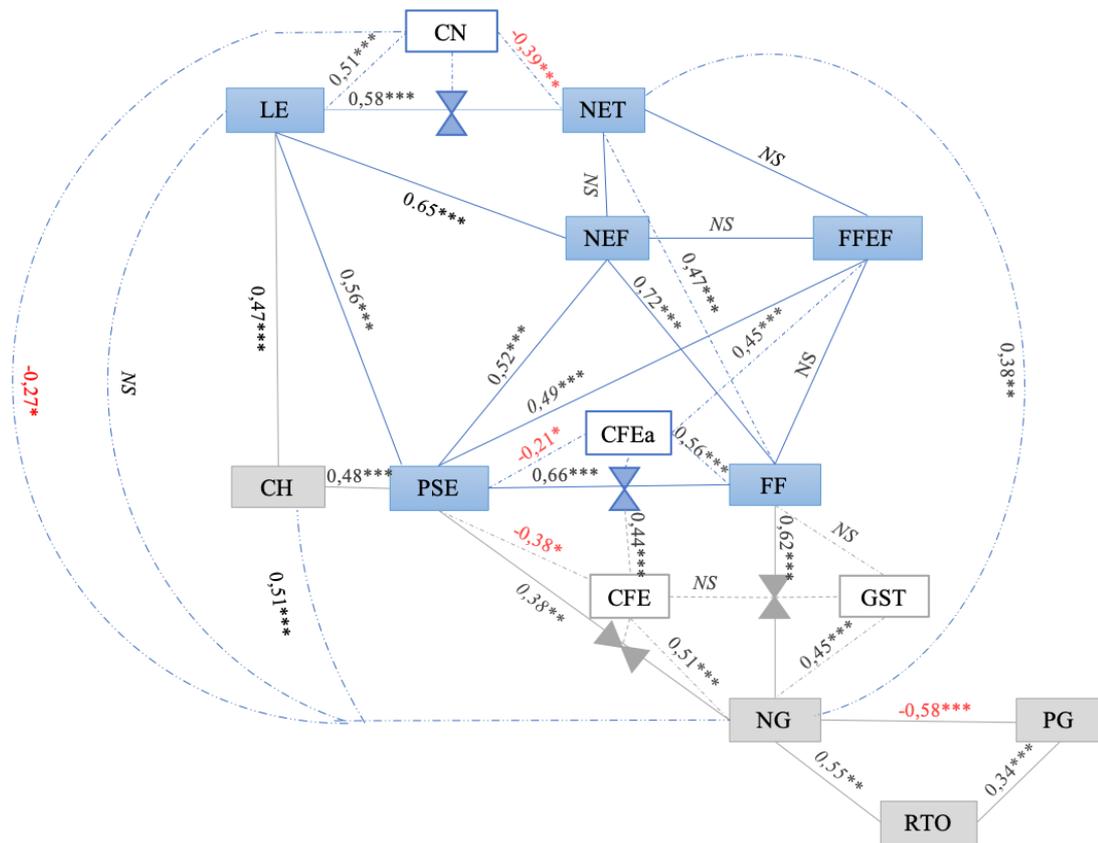


Figura 5. Correlaciones de Pearson entre los diferentes atributos de fertilidad de espiga y los caracteres asociados, basados en un marco fisiológico para la población BP11xB2002.

LE: longitud de espiga (mm), NET: número total de espiguillas por espiga (n° espiga $^{-1}$), CN: compactación de la espiga (mm de raquis espiguilla $^{-1}$), FF: flores fértiles por espiga (n° espiga $^{-1}$), NEF: número de espiguillas fértiles por espiga (n° espiga $^{-1}$), FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil (n° espiguilla $^{-1}$), PSE: peso seco de espiga en antesis (g espiga $^{-1}$), CH: chaff (peso seco de espiga en madurez sin granos, g espiga $^{-1}$), NG: número de granos por espiga (n° espiga $^{-1}$), PG: peso de granos (g), GST: cuaje de granos.

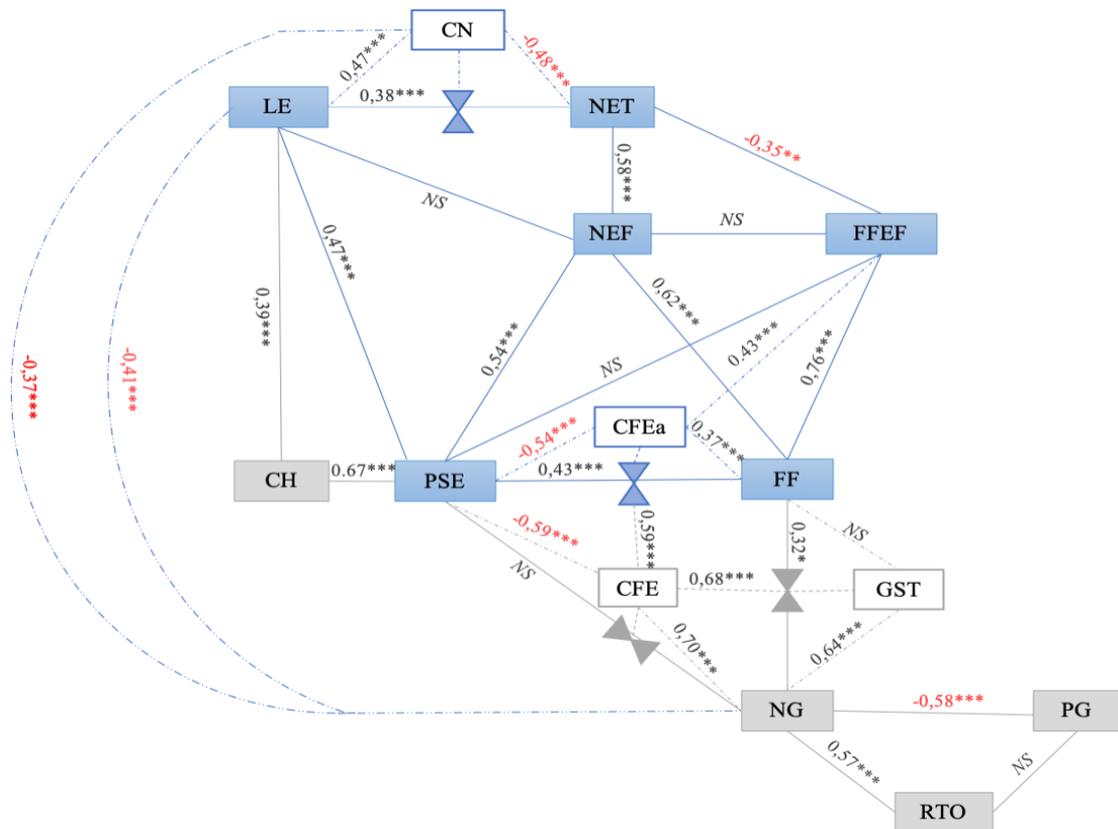


Figura 6. Correlaciones de Pearson entre los diferentes atributos de fertilidad de espiga y los caracteres asociados, basados en un marco fisiológico para la población B19xB2002.

LE: longitud de espiga (mm), NET: número total de espiguillas por espiga (n° espiga $^{-1}$), CN: compactación de la espiga (mm de raquis espiguilla $^{-1}$), FF: flores fértiles por espiga (n° espiga $^{-1}$), NEF: número de espiguillas fértiles por espiga (n° espiga $^{-1}$), FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil (n° espiguilla $^{-1}$), PSE: peso seco de espiga en antesis (g espiga $^{-1}$), CH: chaff (peso seco de espiga en madurez sin granos, g espiga $^{-1}$), NG: número de granos por espiga (n° espiga $^{-1}$), PG: peso de granos (g), GST: cuaje de granos.

2.4. Discusión

La variación del rendimiento del cultivo (RTO m^{-2}) dentro de cada ambiente, es decir asociado con diferencias de genotipo, fue alta en ambas poblaciones y, como se esperaba, fue explicada principalmente por diferencias en el número de granos producidos por unidad de área (NG m^{-2}). El CFE explicó la mayor parte de la variación genotípica

en el número de granos (CFE m^{-2} vs NG m^{-2}) con una menor asociación con el peso seco de espiga en antesis (PSE m^{-2}). Estos resultados concuerdan con publicaciones previas que también muestran una mayor correlación entre el número de granos y el coeficiente de fertilidad de espiga que con el peso seco de la espiga en antesis cuando se consideró la variación entre genotipos dentro de los ambientes (Abbate et al. 1998; Bustos-Korts et al. 2013; García et al. 2014; Elía et al. 2016; Terrile et al. 2017). El NG m^{-2} y el CFE m^{-2} correlacionaron positivamente con sus pares a nivel de espiga (NG y CFE), coincidiendo con Abbate et al. (2013), quienes encontraron buena correlación entre las mediciones a nivel de parcela y en espiga individual.

A nivel de espiga individual, el NG también se correlacionó con el CFE y con el CFEm, pero esta última correlación fue peor que la de NG vs CFE en ambas poblaciones (Pretini et al. 2020a). El CH fue más pesado que el PSE en la mayoría de los casos, mostrando que puede ser un 20-50% mayor (Fischer y Stockman 1980; Stockman et al. 1983; Slafer et al. 2015; Elía et al. 2016) por factores aún desconocidos (Fischer 2011; Slafer et al. 2015). En contraste con Guo et al. (2017), el PSE y el CH mostraron un alto impacto ambiental y un bajo efecto del genotipo, lo que resultó en una heredabilidad moderada en sentido estricto para ambos caracteres.

Como se esperaba, la correlación para los valores BLUE entre el número de granos y las flores fértiles fue alta (62%) en B19xB2002 y moderada (32%) en BP11xB2002, pero el cuaje de granos (GST) tuvo un impacto mayor que el esperado, tal como se mencionó previamente. En el presente trabajo, la correlación, para los BLUE, entre NG y GST fueron altas (45% para B19xB2002 y 64% para BP11xB2002), explicando la correlación positiva entre el CFE y GST reportado en Pretini et al. (2020a). Las diferencias en GST en cultivares modernos también pueden estar detrás de la mayor

correlación reportada entre NG y CFE que la de NG y PSE, discutida en el párrafo anterior (Abbate et al. 1998; Bustos-Korts et al. 2013; García et al. 2014; Elía et al. 2016; Terrile et al. 2017).

Cuando se analizó la relación entre PSE y CFEa o CFE, ésta fue fuertemente negativa de acuerdo con lo esperado la población HD (Pretini et al. 2020a), coincidiendo con algunos reportes previos (Dreccer et al. 2009; Ferrante et al. 2012; Lázaro y Abbate 2012; Terrile et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018).

Coincidiendo con evidencias anteriores, la LE (Chen et al. 2017; Deng et al. 2017; Guo et al. 2017; Würschum et al. 2018), el NET (Deng et al. 2017; Guo et al. 2017; Würschum et al. 2018) y la CN (Guo et al. 2017; Würschum et al. 2018) mostraron una alta heredabilidad. En este Capítulo mostramos por primera vez que la heredabilidad de NEF y FFEF también puede ser alta. Estudios anteriores midieron las espiguillas fértiles en cosecha (es decir, espiguillas que tenían al menos un grano) y reportaron una heredabilidad moderada (Deng et al. 2017; Guo et al. 2017), es decir, menor a la observada en antesis en esta tesis por nosotros. Una vez más, el GST puede estar influyendo en las diferencias de heredabilidad. Hasta donde se sabe, no existen informes previos que vinculen el CFEa con los componentes numéricos de las flores fértiles en antesis. En el presente trabajo, el CFEa mostró alta correlación con el FFEF. Considerando la alta correlación entre CFEa y CFE (Pretini et al. 2020a), un mayor número de FFEF cuando el CFEa es mayor podría explicar los resultados reportados por Elía et al. (2016), quienes observaron que el cultivar con mayor CFE tenía mayor número de flores fértiles por espiguilla a lo largo de la espiga. Entonces, el aumento del CFEa daría como resultado un mayor número de FF asociado con mayor FFEF. Las espigas más largas (mayor LE) y más laxas (mayor CN) tuvieron mayor PSE y mayor CH, el cual

estuvo negativamente correlacionado con el CFEa y CFE. Por lo tanto, las espigas más cortas y compactas se comportarían de manera inversa, incrementando el CFEa y CFE, e invirtiendo menos en PSE y CH. Estos resultados estarían en línea con los presentados por Abbate et al. (1998) quienes observaron menor peso de raquis en los cultivares de mayor CFE. También coincidirían con la observación visual descrita por Alonso et al. (2018). La relación negativa entre el NG y el PG podría sólo ser una consecuencia del incremento del número de granos (y FF) en posiciones distales de las espiguillas al incrementarse el CFEa y CFE, los cuales poseen menor peso y reducen así el peso promedio (Miralles y Slafer 1995; Acreche et al. 2008; Slafer et al. 2015).

2.5. Conclusiones

El rendimiento del cultivo ($RTO\ m^{-2}$) estuvo altamente asociado a la generación de $NG\ m^{-2}$, el cual se correlacionó positivamente de manera más estrecha con el $CFE\ m^{-2}$ que con el $PSE\ m^{-2}$ en ambas poblaciones, en aquellos ambientes donde se pudieron realizar estas determinaciones. Tanto el $NG\ m^{-2}$ como el $CFE\ m^{-2}$ estuvieron positiva y significativamente correlacionados con ambas variables a nivel de espiga, NG y CFE.

El NG dependió del FF, de acuerdo con lo esperado, pero el GST tuvo un efecto superior, en ambas poblaciones. Todos los componentes estructurales y numéricos estudiados presentaron heredabilidades en sentido estricto entre moderadas y altas, reportándose por primera vez esta característica para NEF y FFEF. El FF se asoció positivamente con el CFEa, a través de un mayor FFEF. El CFEa estuvo correlacionado negativamente con el PSE y el CFE con el CH, los cuales se asociaron a espigas largas y laxas.

En función de los resultados presentados y las conclusiones formuladas, las hipótesis (i) *“Las espigas con mayor coeficiente de fertilidad poseen menor longitud y son más compactas (menor CN), que aquellas de menor coeficiente de fertilidad. Al ser más cortas y compactas, invierten menor % de su materia seca en componentes estructurales (Chaff). Como consecuencia de ello, el número de flores fértiles por espiguilla es mayor, incrementado de esta forma el número de flores fértiles por espiga”* y (ii) *“Los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga poseen heredabilidad moderada a alta”* no se rechazan.

CAPITULO III: Bases genéticas del coeficiente de fertilidad de la espiga⁽³⁾

⁽³⁾Los principales resultados de este capítulo se encuentran publicados en Pretini N, Vanzetti LS, Terrile II, Börner A, Plieske J, Ganal M, Röder M, González FG. 2020b. Identification and validation of QTL for spike fertile floret and fruiting efficiencies in hexaploidy wheat (*Triticum aestivum L.*). Theoretical and Applied Genetics, 133:2655-2671.

3.1. Introducción

Los resultados sobre heredabilidad en sentido estricto del CFE y variables asociadas a la fertilidad de la espiga presentados y discutidos en el capítulo anterior son alentadores, puesto que todas fueron entre moderadas y altas. Sin embargo, todas las características presentadas en el capítulo previo son de difícil fenotipado en programas de mejoramiento comercial.

Por otro lado, un estudio reciente mostró que la selección por CFEm en las primeras generaciones podría ayudar a reducir la variabilidad del rendimiento en las generaciones posteriores (Alonso et al. 2018). Nuevamente, a pesar de este reporte prometedor, la complejidad que conlleva medir el coeficiente de fertilidad de espiga puede limitar su uso generalizado como rasgo secundario en los programas de mejoramiento comerciales. La detección de QTL genéticamente ligados a dicho carácter sería el primer paso para facilitar la selección.

En los últimos años, se han generado muchas publicaciones sobre QTL para rendimiento y características asociadas en trigo (ver Capítulo I y IV). Todos identificaron atributos numéricos del rendimiento, pero no determinantes ecofisiológicos del mismo. Hasta donde se sabe, recientemente (y durante el desarrollo de este trabajo) se publicaron tres estudios de asociación de genoma completo (GWAS, *Genome-wide association study*) para CFEm. El primero (Guo et al. 2017) identificó una región en el cromosoma 2A utilizando una población de mapeo de asociación de cultivares invernales europeos, que luego se identificó como el gen *GNI-A1*, asociado con un mayor número de flores y granos fértiles por espiguilla (Sakuma et al. 2019). El segundo (Gerard et al. 2019) detectó cuatro SNP en los cromosomas 2A, 2D, 4D y 5A utilizando un pequeño panel de asociación formado con cultivares de 20 países en los cinco continentes. Finalmente, para

una colección de cultivares argentinos de trigo, Basile et al. (2019) detectaron 17 regiones distribuidas en siete cromosomas (1A, 2A, 3B, 4A, 5A, 6A y 7A). Una vez que se identifica un QTL para un carácter de interés, es deseable su validación antes de aplicarlos en la selección asistida por marcadores (MAS, *Marker assisted selection*) (Dao et al. 2017), lo que no se realizó en los últimos dos trabajos mencionados.

Este Capítulo busca cumplir con el objetivo específico (ii): identificar QTL para CFEa, CFE y CFEm (ver Capítulo I). Para ello se utilizaron las dos poblaciones HD (BP11xB2002 y B19xB2002) descritas en el Capítulo anterior (II). Como mencionamos anteriormente, dichas poblaciones fueron diseñadas especialmente para estudiar el coeficiente de fertilidad de espiga a partir de la selección de líneas parentales contrastantes para CFEm, resultantes del screening de 39 cultivares de trigo (Figura 7) (González et al. 2011), las que también fueron diferentes en CFE (Terrile et al. 2017). Una vez identificados los QTL, nos enfocamos en el objetivo específico (iii) realizando la validación de los QTL más promisorios mediante el desarrollo de poblaciones F₂ independientes y asociando el fenotipo con los marcadores pico de cada QTL transformados en marcadores KASP (*Kompetitive Allele Specific PCR*) adecuados para su uso en MAS (Figura 7). Por último, se buscó determinar si los QTL validados para los distintos coeficientes de fertilidad tenía efectos pleiotrópicos, no sólo en el NG final y sus determinantes fisiológicos (FF y GST), sino también en los componentes de la estructura de la espiga (es decir, espiguillas totales - NET, espiguillas fértiles - NEF, flores fértiles por espiguilla fértil - FFEF, longitud de la espiga - LE y compactación - CN o mm de raquis espiguilla⁻¹) y así cumplir con el objetivo específico (iv) (Figura 7). Finalmente, como algunos autores reportaron una relación negativa entre CFE y PSE (o CFEm y CH en madurez) (Slafer et al. 2015; Terrile et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018), o entre CFE y

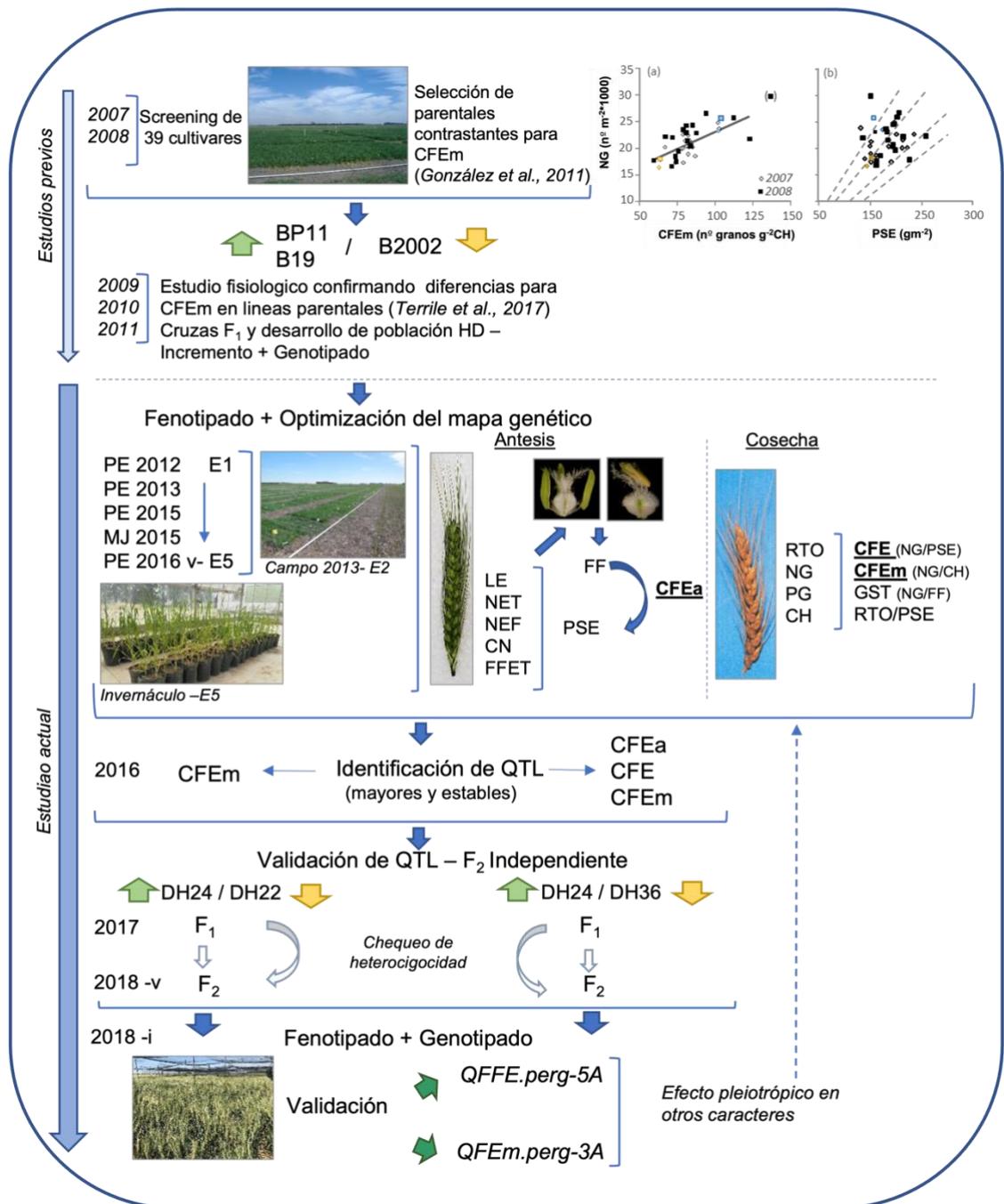


Figura 7. Flujo de trabajo que muestra la línea de tiempo, las poblaciones genéticas, los ambientes y las variables medidas. E1 a E5: ambientes donde se fenotipó la población HD. PE: Pergamino, MJ: Marcos Juárez, v: verano, CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez, LE: longitud de la espiga, NET: número de espiguillas totales por espiga, NEF: número de espiguillas fértiles por espiga, CN: compactación, CH: Chaff - peso seco de espiga sin grano en madurez, FF: flores fértiles espiga, FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil, PSE: peso seco de espiga en antesis, GST: cuaje de granos, NG: número de granos, PG: peso de granos.

peso de grano (PG) (Slafer et al. 2015; Terrile et al. 2017), visto también en las dos poblaciones evaluadas en esta tesis, se evaluaron los efectos pleiotrópicos de los QTL validados sobre PSE, CH, PG, RTO y RTO/PSE.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Material vegetal y desarrollo de poblaciones

El mapeo de QTL se realizó utilizando ambas poblaciones haploides duplicadas (HD) (Figura 7), descritas en el Capítulo II.

Una vez fenotipadas ambas poblaciones e identificados los QTL para fertilidad de espiga (que se presentarán en detalle en la sección resultados de este Capítulo), se generaron dos poblaciones F₂ independientes de 500 plantas cada una para validar los dos QTL más representativos, uno para CFEa, CFE y CFEm (*QFFE.perg-5A*), y el otro para CFEm (*QFEm.perg-3A*), ambos detectados en la población B19xB2002 (Figura 7). Cada población F₂ para la validación deriva del cruzamiento entre dos líneas HD seleccionadas de la población B19xB2002. La primera población deriva del cruzamiento “HD24xHD36” (Pobl 1), siendo HD24 una línea con valores altos, mientras que HD36 es una línea con valores bajos, de CFEa, CFE y CFEm. La segunda población deriva del cruzamiento “HD24xHD22” (Pobl 2), siendo HD24 una línea con alto, y HD22 una línea con bajo CFEm. Antes de seleccionar las líneas contrastantes para los cruzamientos, se verificó que segregaran sólo para *QFFE.perg-5A* (Pobl 1) o *QFEm.perg-3A* (Pobl 2) y luego se procedió a fijar los genes relacionados con la fenología y altura de planta. Particularmente se fijaron los alelos primaverales *Vrn-A1b* (Yan et al. 2004) y *Vrn-B1* (Fu et al. 2005) y un QTL estable para altura de planta (*Rht25*) ubicado en el cromosoma 6A (51,2 cM), utilizando el alelo que confiere mayor altura proveniente de B2002 (Mo et

al. 2019). Finalmente, se comprobó que las líneas seleccionadas fueran monomórficas para el alelo de insensibilidad al fotoperíodo *Ppd-D1a*, utilizando los marcadores de PCR desarrollados por Beales et al. (2007). Antes de obtener la F₂, utilizando medio grano sin embrión, se comprobó que las semillas F₁ de cada cruce fueran heterocigotas (Figura 7) analizando la composición de gluteninas de alto peso molecular (HMWG, *High Molecular Weight Glutenin*) mediante SDS PAGE según Pflüger et al. (2001).

3.2.2. Genotipado y construcción del mapa genético

Ambas poblaciones fueron genotipadas con un chip iSelect 90K SNP (Wang et al. 2014). Para la construcción de los mapas genéticos, se descartaron los marcadores SNP con más del 20% de datos faltantes y/o heterocigotas. Se utilizó el script de Python, `merger.py`⁴ para agrupar todos los SNP que mostraban una segregación idéntica en la población. Finalmente, se utilizó el paquete R “Rqt1” (Broman et al. 2003) para el desarrollo del mapa genético. Además, se agregaron dos marcadores funcionales para los genes de vernalización *Vrn-A1* (Yan et al. 2004) y *Vrn-B1* (Fu et al. 2005) al mapa genético. La posición física de los SNP se determinó mediante BLAST con la base de referencia IWGSC Ref. Seq. v1.0 del genoma del trigo (Appels et al. 2018).

Las poblaciones F₂ para las validaciones de los QTL (Pobl 1 y Pobl 2) fueron genotipadas usando marcadores KASP (LGC-Genomics, UK) con cebadores diseñados usando PolyMarker (Ramirez-González et al. 2015) (Cuadro Suplementario S2). Los marcadores KASP se corrieron en una PCR de tiempo real StepOnePlus (Thermo Fisher Scientific) en las siguientes condiciones térmicas: 95°C durante 15 min (activación

⁴ <https://github.com/juancrescente/lmap>.

enzimática de arranque en caliente), 95°C durante 30 s, 65°C durante 1 min (toma de contacto por encima de 65-57°C durante 60 s), diez ciclos (bajando 0,8°C por ciclo) y 72°C durante 30 s (11 ciclos); 94°C durante 30 s, 57°C durante 1 min y 72°C durante 30 s (26 ciclos); y 72°C durante 5 min y 20°C (final).

3.2.3. Fenotipado

3.2.3.1. Ejecución de los experimentos y condiciones generales

El fenotipado para el mapeo QTL de las poblaciones HD incluyó cuatro (BP11xB2002) y cinco ambientes (B19xB2002) (Ver Capítulo II, Cuadro 1, y Figura 7).

Los experimentos para la validación de QTL, utilizando las poblaciones F₂, se realizaron en condiciones de campo protegidos por una red anti-pájaros, en la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) (33° 51' S, 60° 56' W). Las semillas de ambas poblaciones F₂ se sembraron el 19 de junio del 2018 a 0,30 m cada una en surcos de 1,20 m de largo, espaciados a 0,20 m. Para todos los experimentos, se controlaron plagas y enfermedades mediante la aplicación de productos químicos apropiados, y se realizó una alta fertilización e irrigación.

3.2.3.2. Descripción de los muestreos y caracteres fenotipados

Para ver detalles del fenotipado de las poblaciones HD leer la sección 2.2.3 en el Capítulo II.

Las plantas F₂ de la Pobl 1 se evaluaron para: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (CFEa), coeficiente de fertilidad de espiga (CFE) y coeficiente de fertilidad de

espiga en madurez (CFEm), mientras que las plantas F₂ de Pobl 2 se evaluaron sólo para coeficiente de fertilidad de espiga en madurez (CFEm) (Figura 7), que se estimaron de manera similar a lo descrito en el capítulo para la población HD. El muestreo se ajustó al diseño de una planta como unidad experimental. En la Pobl 1, la espiga del vástago principal de cada planta individual se cortó en antesis y la espiga del primer macollo se cortó en madurez, mientras que en Pobl 2 la espiga del vástago principal de cada planta individual se cortó en madurez (en la Pobl 2, no se realizaron mediciones en antesis dado que sólo se evaluó el CFEm). Para estimar CFEa, se contó el número de FF de cada espiga en todas las espiguillas de la espiga (en lugar de un lado sólo como se realizó en la población HD).

3.2.4. QTL y análisis estadísticos

Los análisis de QTL para ambas poblaciones HD se realizaron utilizando un mapeo de intervalo compuesto (CIM, *Composite Interval Mapping*) con regresiones forward y backward y 500 permutaciones con un $\alpha = 0,05$ utilizando el software QTL Cartographer 2.5 (Wang et al. 2012). El análisis de QTL se realizó sobre los datos de cada ambiente por separado, después de promediar los datos de cada una de las líneas HD en todas las repeticiones dentro de cada ambiente. Se calcularon los valores BLUE para cada línea HD, incluidos todos los ambientes como variable aleatoria. Los valores BLUE se trataron como un ambiente adicional en el mapeo de QTL. Se seleccionó un valor LOD de 2,5 como umbral uniforme para todos los análisis. Los QTL se consideraron estables si se detectaron al menos en tres ambientes y se definieron como QTL mayores si poseían un $R^2 > 10\%$ al menos en un ambiente.

Para cada uno de los caracteres evaluados en las poblaciones HD, se realizó un ANOVA factorial utilizando el marcador pico del QTL como variable de clasificación en el modelo, junto con todas las posibles interacciones en primer grado para determinar las posibles interacciones epistáticas entre los QTL. Los ambientes se incluyeron como variables aleatorias. Para las poblaciones F₂, se realizaron ANOVAs unidireccionales por separado para cada QTL. Los datos que violaban los supuestos del ANOVA (normalidad de los residuos según las pruebas de Shapiro-Wilk y homogeneidad de las varianzas según las pruebas de Levene) se corrigieron mediante transformaciones de potencia. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando Infostat/P (Di Rienzo et al. 2016).

Se estimó el efecto aditivo (a), el efecto de dominancia (d) y el grado de dominancia ($D = d/a$) para los QTL de interés. El grado de dominancia se calculó como:

$$D = \frac{2x_2 - x_1 - x_3}{x_1 - x_3}$$

donde x_1 , x_2 y x_3 son los valores fenotípicos del homocigoto con el alelo favorable, el valor heterocigoto y el otro homocigoto con el alelo desfavorable (Falconer 1960; Stone 1968). $D = 0$ sería indicativo de no dominancia, $D = 1$ indicativo de dominancia completa, $0 < D < 1$ de dominancia incompleta, $-1 < D < 0$ de recesividad incompleta y $D = -1$ de recesividad completa (Stone 1968).

3.3. Resultados

3.3.1. Fenotipado de las poblaciones HD

A modo de resumen, se repasan algunos resultados del fenotipado. Los coeficientes de fertilidad, CFEa, CFE y CFEm, mostraron una distribución normal para

todos los ambientes en ambas poblaciones, variando de 94 ± 12 a 149 ± 35 flores gPSE^{-1} , 105 ± 38 a 143 ± 30 granos gPSE^{-1} y 70 ± 24 a 136 ± 19 granos gCH^{-1} , respectivamente en la población B19xB2002 y de 96 ± 12 a 152 ± 16 flores gPSE^{-1} , 114 ± 20 a 138 ± 28 granos gPSE^{-1} y 84 ± 12 a 114 ± 16 granos gCH^{-1} , respectivamente en la población BP11xB2002. Se observó segregación transgresiva con valores mayores y menores que las líneas parentales (Cuadro Suplementario S1, Figura Suplementaria S1). Los resultados detallados sobre la heredabilidad en sentido estricto y la relación entre caracteres se presentaron en el Capítulo II.

3.3.2. Mapeo de QTL para CFEa, CFE y CFEm en las poblaciones HD

3.3.2.1. Mapas genéticos de ligamiento

El mapa de ligamiento final de BP11xB2002 constó de 7.323 SNP y dos marcadores funcionales para los genes de vernalización *Vrn-A1* (Yan et al. 2004) y *Vrn-B1* (Fu et al. 2005) (Cuadro 8, Cuadro Suplementario S5). Todos los SNP representaron 723 *loci* en los 21 cromosomas del trigo. El mapa cubre 2.605,3 cM de longitud con un espaciado medio entre locus de 4,7 cM (Cuadro 8, Cuadro Suplementario S3). Los genomas A y B fueron similares con al menos tres veces el número de marcadores polimórficos que el genoma D, con 2.955, 3.513 y 857 marcadores, respectivamente (Cuadro 8).

El mapa final de B19xB2002 consistió en 10.936 SNP más los marcadores *Vrn-A1* y *Vrn-B1* distribuidos en 739 *loci* en los 21 cromosomas del trigo. La longitud total del mapa fue de 2.221,7 cM, con un espaciado de locus promedio de 4,3 cM (Cuadro 9, Cuadro Suplementario S4). La distribución desigual de marcadores fue mayor con 4.126, 5.448 y 1.364 marcadores en los genomas A, B y D, respectivamente (Cuadro 9). El

número de loci de los genomas A y B triplica el número de loci del genoma D en ambas poblaciones, con 311, 300 y 113 loci en BP11xB2002 y 324, 317 y 98 loci en B19xB2002, respectivamente (Cuadro 8, Cuadro 9).

Cuadro 8. Descripción del mapa genético de la población HD Baguette Premium 11 x BIOINTA 2002.

Cromosoma	SNPs	Locus	Longitud (cM)	Espaciado promedio (cM)	Espaciado máximo (cM)
1A	408	34	48,4	1,5	5,7
1B	410	40	230,9	5,9	67,7
1D	218	19	158,0	8,8	71,5
2A	504	42	84,8	2,1	6,6
2B	776	46	129,1	2,9	10,6
2D	199	19	173,4	9,6	79,4
3A	376	52	182,0	3,6	15,2
3B	489	49	146,2	3,1	18,4
3D	60	11	87,7	8,8	35,5
4A	351	49	101,4	2,1	8,8
4B	327	42	152,2	3,7	37,7
4D	30	5	10,5	2,6	4,7
5A	461	50	122,5	2,5	18,0
5B	643	46	104,6	2,3	11,6
5D	144	23	100,8	4,6	18,1
6A	396	43	144,7	3,4	22,3
6B	430	38	79,4	2,1	13,7
6D	105	9	122,3	15,3	102,7
7A	459	41	149,2	3,7	67,0
7B	438	38	130,1	3,5	37,6
7D	101	27	147,1	5,7	49,8
Genoma A	2.955	311	833,0	2,7	67,0
Genoma B	3.513	299	972,5	3,3	67,7
Genoma D	857	113	799,8	7,5	102,7
Total	7.325	723	2.605,3	4,7	102,7

Cuadro 9. Descripción del mapa genético de la población HD Baguette 19 x BioINTA 2002.

Cromosoma	SNPs	Locus	Longitud (cM)	Espaciado promedio (cM)	Espaciado máximo (cM)
1A	519	36	184,1	5,3	29,9
1B	738	45	86,4	1,9	10,3
1D	413	26	139,4	5,6	81,5
2A	683	59	112,8	1,9	24,5
2B	1.427	55	107,0	2,0	20,6
2D	418	14	186,9	14,4	73,4
3A	504	45	95,9	2,2	12,0
3B	694	42	120,8	2,9	27,3
3D	134	7	172,2	28,7	93,9
4A	436	52	85,7	1,7	9,0
4B	368	39	64,8	1,7	11,3
4D	14	7	39,5	6,6	12,1
5A	633	54	113,3	2,1	22,6
5B	802	63	105,7	1,7	10,3
5D	124	9	9,9	1,2	3,9
6A	769	42	84,0	2,0	15,0
6B	686	40	84,4	2,2	21,4
6D	187	17	82,7	5,2	60,1
7A	582	36	121,8	3,5	22,2
7B	733	33	107,7	3,4	26,0
7D	74	18	116,7	6,9	61,8
Genoma A	4.126	324	797,6	2,5	29,9
Genoma B	5.448	317	676,8	2,2	27,3
Genoma D	1.364	98	747,3	8,2	93,9
Total	10.938	739	2.221,7	4,3	93,9

3.3.2.2. Mapeo de QTL

En la población de BP11xB2002 se detectaron un total de 35 QTL en todos los ambientes y BLUE analizados agrupados en 28 regiones. Los QTL se distribuyeron en 17 de los 21 cromosomas del trigo (Cuadro 10).

El cultivar B2002 contribuyó con siete de los 35 QTL detectados, dos de ellos asociados con CFEa, otros dos asociados a CFE y los tres restantes asociados a CFEm. Todos los marcadores picos de estos QTL se encontraron presentes en sólo un ambiente en los cromosomas 3B, 6A para CFEa, 2B y 7B para CFE, y 1 D, 2A y 7A para CFEm. El resto de los QTL aportados por BP11 se describen en los siguientes ítems.

En la población de B19xB2002 se detectaron un total de 37 QTL en todos los ambientes y BLUE analizados agrupados en 21 regiones. Los QTL se distribuyeron en 14 de los 21 cromosomas del trigo (Cuadro 11). El cultivar B2002 contribuyó a tres de los 37 QTL detectados, dos de ellos asociados con CFEa y el tercero con CFE. El marcador pico de los dos QTL para CFEa fue ubicado en el cromosoma 5B coincidiendo con el gen de respuesta de vernalización *Vrn-B1* (el alelo primaveral de B2002 aumentó el CFEa). Dado que estos QTL se detectaron en el ambiente E5 (invernáculo) que se llevó a cabo durante el verano, lo que indica que podría ser un efecto de la fenología sobre el cultivo. El QTL restante aportado por B2002 y detectado para CFE estuvo ubicado en el cromosoma 7B, pero presente sólo en un ambiente y el marcador pico explicó sólo el 5% de la variabilidad observada, por lo que no se consideró significativo. Sólo uno de los QTL aportados por B19 se localizó junto con el gen *Vrn-A1*. Este, detectándose también en el ensayo en invernáculo en el cromosoma 5A (el alelo de primaveral de B19 aumentó el CFEa).

El resto de los QTL aportados por BP11 y B19 se describen en los siguientes ítems.

Cuadro 10. QTL identificados para CFEa, CFE y CFEm en los cinco ambientes probados en la población BP11xB2002.

Caracteres	Cr.	Amb.	Marcador pico ^a	Pos. Gen. (cM)	Pos. física (Mb)	LOD	Dador	Ad.	R ² (%)
CFEa	1A	B	<i>CAP7_c2317_217</i>	28,2	48,8	5,68	BP11	5,0	20
	1A	B	<i>RAC875_c25799_457</i>	33,6	381,3	5,40	BP11	5,1	21
	1A	E1	<i>wsnp_BG263358A-Ta_2_3</i>	38,4	531,6	4,47	BP11	4,7	12
	3B	E1	<i>Kukri_rep_c114800_56</i>	101,4	190,9	10,44	B2002	7,8	36
	5A	B	<i>IAAV7519</i>	3,4	1,8	5,01	BP11	4,7	18
	5B	E3	<i>Tdurum_contig31845_322</i>	12,9	120,5	5,34	BP11	7,5	21
	6A	E1	<i>BS00072903_51</i>	102,2	544,2	3,50	BP11	4,3	9
	6A	B	<i>Kukri_c669_259</i>	105,0	574,5	2,97	BP11	3,6	10
	6B	E1	<i>wsnp_Ex_c19082_27999258</i>	40,6	61,5	5,56	BP11	5,2	16
	6B	E2	<i>IACX2322</i>	65,8	694,2	3,80	B2002	6,2	17
	7A	E1	<i>RAC875_c9697_1067</i>	14,6	516,1	3,47	BP11	3,9	9
	7A	B	<i>RAC875_c9697_1067</i>	15,6	516,2	2,66	BP11	3,4	9
	7B	E2	<i>BobWhite_c36693_210</i>	39,2	34,0	3,10	BP11	5,5	13
	CFE	2A	B	<i>JD_c10324_88</i>	79,8	770,0	3,45	BP11	7,1
2A		E3	<i>JD_c10324_88</i>	80,8	770,0	3,24	BP11	11,1	15
2B		E3	<i>JD_c14855_506</i>	71,7	122,3	4,35	B2002	17,7	18
2B		B	<i>RAC875_s109189_188</i>	79,1	248,1	3,47	BP11	6,8	14
2B		E3	<i>Tdurum_contig17626_268</i>	90,6	683,2	3,91	BP11	17,3	16
3B		B	<i>BS00022242_51</i>	39,7	42,3	2,79	BP11	6,2	12
6D		E2	<i>GENE-2903_68</i>	0,0	11,5	3,13	BP11	6,9	13
7B		E3	<i>RAC875_c1329_298</i>	129,6	744,5	2,65	B2002	9,5	10
CFEm	1B	E4	<i>RAC875_c66649_186</i>	123,3	626,7	2,85	BP11	7,3	11
	1B	E3	<i>BS00084895_51</i>	200,7	643,1	2,62	BP11	6,9	10

1D	E2	<i>BS00022178_51</i>	6,2	16,6	8,65	B2002	8,7	29
2A	B	<i>Excalibur_rep_c105284_131</i>	31,2	49,5	4,17	B2002	5,0	15
2A	B	<i>Kukri_c16667_132</i>	81,8	771,5	3,30	BP11	4,7	12
2D	B	<i>Tdurum_contig17626_210</i>	59,5	571,5	3,64	BP11	6,6	24
2D	E2	<i>Tdurum_contig17626_210</i>	68,1	571,5	5,73	BP11	7,7	17
3A	E2	<i>wsnp_Ra_c27984_37480491</i>	98,4	658,7	6,65	BP11	7,9	21
3B	B	<i>wsnp_Ku_c4078_7436510</i>	61,7	555,5	2,92	BP11	4,3	10
4B	E3	<i>Ku_c27617_684</i>	107,3	33,6	3,00	BP11	4,4	14
5A	E4	<i>BS00100185_51</i>	2,0	14,8	4,64	BP11	10,7	23
7A	E2	<i>BS00065851_51</i>	148,4	734,9	3,62	B2002	5,4	11
7B	E3	<i>RAC875_c27939_335</i>	52,1	608,2	3,10	BP11	4,2	12
7D	E2	<i>BS00067285_51</i>	112,6	591,2	3,39	BP11	5,4	11

Cr. cromosoma, Amb. ambiente, Ad. efecto aditivo. Para la descripción de los ambientes ver Cuadro 1 (Capítulo II). B: indica BLUE.

^aMarcador más cercano al pico LOD más alto.

Cuadro 11. QTL identificados para CFEa, CFE y CFEm en los cinco ambientes probados en la población B19xB2002.

Car.	Cr.	Amb.	Marcador pico ^a	Pos. Gen. (cM)	Pos. física (Mb)	LOD	Dador	Ad.	R ² (%)
CFEa	1A	E2	<i>RAC875_c54245_88</i>	74,4	15,4	4,36	B19	18,6	21
	1A	E3	<i>RAC875_c54245_88</i>	74,4	15,4	5,00	B19	21,9	19
	1A	B	<i>RAC875_c54245_88</i>	74,4	15,4	4,36	B19	18,2	18
	2A	E1	<i>BS00065434_51</i>	106,2	774,1	4,55	B19	9,6	14
	5A	E1	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	3,98	B19	8,4	11
	5A	E2	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	5,05	B19	11,1	12
	5A	E3	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	3,54	B19	19,2	23
	5A	B	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	4,12	B19	15,0	20
	5A	E5	<i>Vrn-A1</i>	75,3	587,4	7,18	B19	24,3	13
	5B	E5	<i>Vrn-B1</i>	64,0	573,8	8,23	B2002	31,0	21
	5B	B	<i>Vrn-B1</i>	64,0	573,8	2,90	B2002	12,2	13
	6B	E3	<i>Ex_c17379_1431</i>	66,6	692,8	2,82	B19	13,2	10
	CFE	1B	E2	<i>Ra_c21994_996</i>	62,5	656,8	3,24	B19	17,8
1D		E5	<i>Excalibur_c15692_532</i>	36,7	12,1	2,82	B19	22,5	10
1D		B	<i>Excalibur_c15692_532</i>	36,7	12,1	2,50	B19	14,7	8
2D		E3	<i>BS00079440_51</i>	82,3	79,4	6,01	B19	31,0	21
2D		B	<i>BS00079440_51</i>	82,3	79,4	5,04	B19	22,2	18
4D		E5	<i>Kukri_rep_c68594_530</i>	24,2	12,7	2,65	B19	21,5	9
5A		E3	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	4,09	B19	22,4	11
5A		E5	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	2,91	B19	29,4	17
5A		B	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	6,46	B19	26,7	26
6B		E2	<i>BS00063109_51</i>	40,3	57,8	4,38	B19	12,9	7
7B	E3	<i>RAC875_c27939_335</i>	34,4	349,8	2,67	B2002	15,1	5	

CFEm	1A	E3	<i>RAC875_c54245_88</i>	74,4	14,4	4,20	B19	14,2	19
	1A	E4	<i>RAC875_c53185_802</i>	149,3	480,5	4,57	B19	9,9	11
	2D	E3	<i>BS00079440_51</i>	82,3	79,4	3,74	B19	13,1	25
	3A	E2	<i>wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152</i>	51,6	685,1	3,63	B19	13,2	11
	3A	E4	<i>wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152</i>	51,6	685,1	4,39	B19	10,1	14
	3A	E5	<i>wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152</i>	51,6	685,1	3,69	B19	13,6	9
	3A	B	<i>wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152</i>	51,6	685,1	4,00	B19	10,2	14
	4D	B	<i>BS00099053_51</i>	2,9	3,6	2,53	B19	7,1	7
	5A	E3	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	3,04	B19	9,4	13
	5A	E5	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	2,50	B19	22,1	23
	5A	B	<i>BS00083507_51</i>	42,1	461,5	4,93	B19	11,5	19
	6A	E2	<i>BS00082191_51</i>	44,3	7,6	2,69	B19	17,0	18
	7A	E4	<i>wsnp_Ku_rep_c113718_96236830</i>	68,3	625,7	3,62	B19	7,1	7
	7A	B	<i>BobWhite_c24760_142</i>	60,7	128,5	4,95	B19	12,0	20

Car. Carácter, Cr. cromosoma, Amb. ambiente, Ad. efecto aditivo. Para la descripción de los ambientes ver Cuadro 1 (Capítulo II). B: BLUE.

^aMarcador más cercano al pico LOD más alto.

3.3.2.3. QTL para CFEa aportados por BP11 y B19

El análisis de QTL detectó 11 regiones en los cromosomas 1A, 3B, 5A, 5B, 6A, 6B, 7A y 7D en la población BP11xB2002 y seis regiones en los cromosomas 1A, 2A, 5A, 5B y 6B en la población B19xB2002 para CFEa (Cuadro 10, Cuadro 11), pero sólo dos regiones en los cromosomas 5A y 1A en la población B19xB2002 fueron estables. El QTL 5A fue consistente en tres de los cuatro ambientes probados y también en el BLUE. El pico de este QTL se mapeó con el marcador SNP *BS00083507_51* (42,1 cM, 461,5 Mb) con un LOD máximo de 5,05 (Figura 8a). En el ANOVA factorial, *BS00083507_51* explicó el 11,0-23,0% de la variabilidad observada en el CFEa. La diferencia promedio de CFEa entre los alelos B19 y B2002 para el marcador *BS00083507_51* fue de 8,4-19,2 flores gPSE^{-1} (Cuadro 11). El QTL 1A fue consistente en dos de los cuatro ambientes probados y en el valor BLUE, mapeando con el marcador SNP *RAC875_c54245_88* (74,4 cM, 15,4 Mb) con un LOD máximo de 5,00 (Figura 8b). En el ANOVA factorial, *RAC875_c54245_88* explicó 18,0–21,0% de la variabilidad observada en CFEa. La diferencia promedio de CFEa entre los alelos B19 y B2002 para el marcador *RAC875_c54245_8* fue de 18,2-21,9 flores gPSE^{-1} (Cuadro 11).

3.3.2.4. QTL para CFE aportados por BP11 y B19

Para el CFE, el análisis de QTL identificó 7 regiones en los cromosomas 2A, 2B, 3B, 6D y 7A en la población BP11xB2002 y 7 regiones en los cromosomas 1B, 1D, 2D, 4D, 5A, 6B y 7B en la población B19xB2002 (Cuadro 10, Cuadro 11). El más estable fue el QTL localizado en la población B19xB2002 en el cromosoma 5A que fue consistente en 2 de los 3 ambientes estudiados y en el BLUE. Este QTL pico, al igual que para CFEa, fue mapeado con el marcador SNP *BS00083507_51* (42,1 cM, 461,5 Mb) con un LOD

máximo de 6,46 (Figura 8c). En el ANOVA factorial, *BS00083507_51* explicó 11,0-26,0% de la variabilidad observada en CEF. La diferencia promedio de CFE entre los alelos B19 y B2002 para el marcador *BS00083507_51* fue de 22,4 a 29,4 granos gPSE^{-1} (Cuadro 11).

3.3.2.5. QTL para CFEm aportados por BP11 y B19

Se identificaron 12 regiones en los cromosomas 1B, 1D, 2A, 2D, 3A, 3B, 4B, 5A, 7A, 7B y 7D en la población BP11xB2002 y ocho regiones en los cromosomas 1A, 2D, 3A, 4D, 5A, 6A y 7A para CFEm (Cuadro 10, Cuadro 11). El QTL 5A de la población B19xB2002 fue consistente en dos de los cuatro ambientes probados y en el BLUE. El QTL pico también fue mapeado con el marcador SNP *BS00083507_51* (42,1 cM, 461,5 Mb), similar a los identificados para CFEa y CFE, con un LOD máximo de 4,93 (Figura 8d). En el ANOVA factorial, *BS00083507_51* explicó 13,0-23,0% de la variabilidad observada en el CFEm. La diferencia promedio entre los alelos B19 y B2002 para el marcador *BS00083507_51* fue de 9,4 a 22,1 granos gCH^{-1} (Cuadro 11). Otro QTL prometedor fue el presente en la población B19xB2002 en el cromosoma 3A, el que fue consistente en tres de los cuatro ambientes estudiados. El QTL pico fue mapeado con el marcador SNP *wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152* (51,6 cM, 685,1 Mb) con un LOD máximo de 4,00 (Figura 8e). En el ANOVA factorial, *wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152* explicó 9,0-14,0% de la variabilidad observada en el CFEm (Cuadro 11). La diferencia promedio entre los alelos B19 y B2002 para el marcador *wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152* fue de 10,1 a 13,6 granos gCH^{-1} (Cuadro 11).

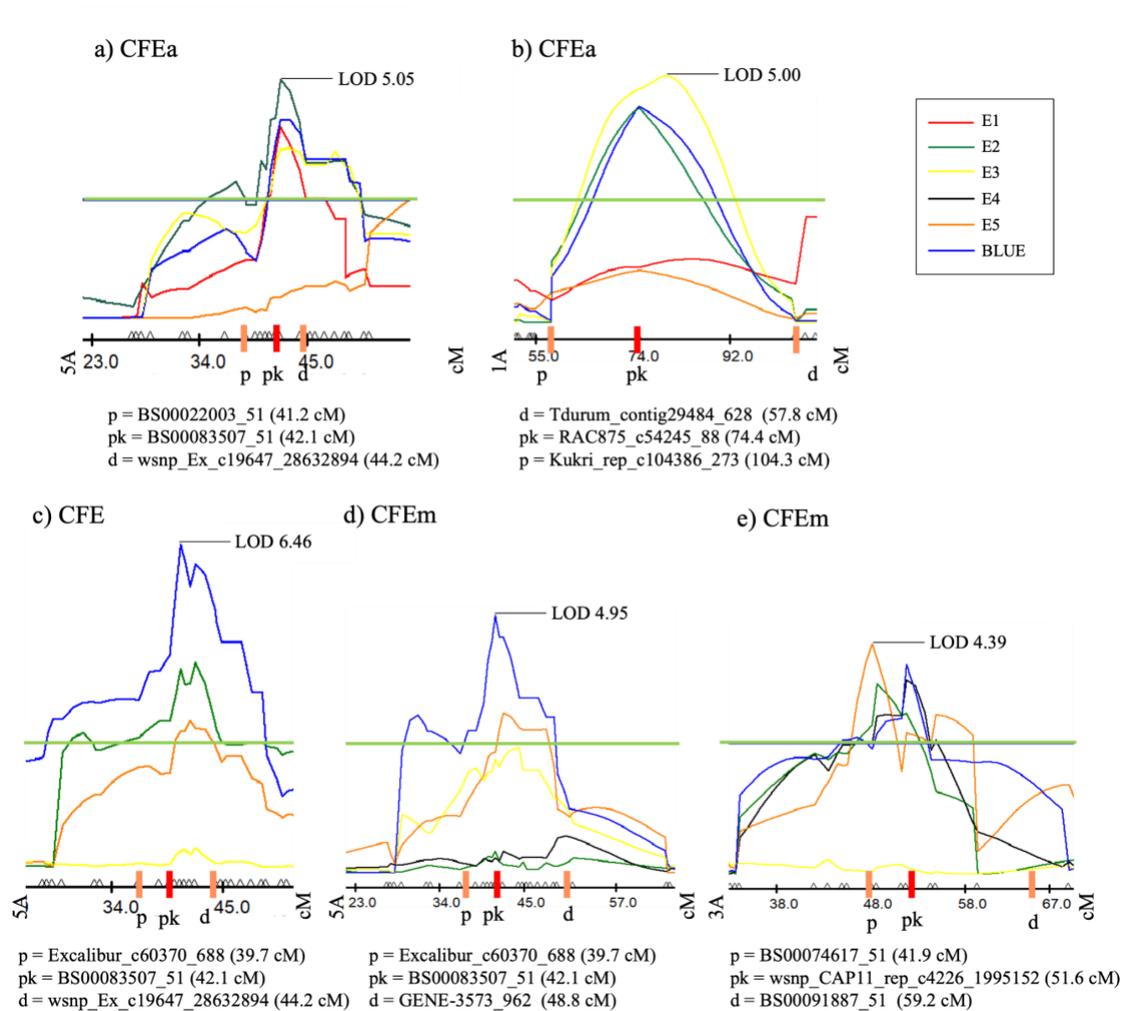


Figura 8. QTL estables y mayores detectados en la población HD de mapeo B19xB2002 para a) CFEa en el cromosoma 5A, b) CFEa en el cromosoma 1A, c) CFE en el cromosoma 5A, d) CFEm en el cromosoma 5A y, e) CFEm en el cromosoma 3A. Se indican los picos LOD máximos, la línea horizontal verde claro indica el LOD umbral (2,5). Las líneas de diferentes colores indican los diferentes ambientes para cada carácter. Pk: marcador pico (marcas rojas), d: marcador flanqueante +1LOD y p: marcador de flanqueante -1LOD (marcas de color naranja). Para la nomenclatura de los ambientes ver Cuadro 1 (Capítulo II).

3.3.2.6. QTL consolidados y sus interacciones epistáticas

Considerando “estables” aquellos QTL presentes en al menos tres ambientes con un $LOD > 2,5$ y como QTL “mayores” si presentan un $R^2 > 10\%$ en al menos un ambiente;

detectamos dos QTL mayores y estables. El primero fue el identificado en la población B19xB2002 con el SNP *BS00083507_51* ubicado en el cromosoma 5A (42,1 cM, 461,5 Mb), en adelante *QFFE.perg-5A*. Se detectó en la mayor cantidad de ambientes en el análisis de QTL para CFEa y también se observó en tres y dos ambientes para CFE y CFEm (incluidos los BLUE). El segundo fue identificado también en la población B19xB2002 con el SNP *wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152* ubicado en el cromosoma 3A (51,6 cM, 685,1 Mb), en adelante *QFEm.perg-3A*. Se detectó en el mayor número de ambientes en el análisis de QTL para CFEm. Este QTL también fue identificado en la población BP11xB2002, pero sólo en un ambiente (E4).

Considerando un modelo lineal mixto generalizado con los ambientes como efectos aleatorios, los efectos de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* sobre CFEa fueron significativo ($p < 0,0001$ y $p = 0,048$, respectivamente) mientras que no se observaron interacciones epistáticas entre ambos QTL ($p = 0,6199$). Las plantas que portaban el alelo favorable para CFEa (B19) en los QTL *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* tenían 15,7 y 4,1 más flores fértiles establecidas por unidad de peso seco de la espiga en la antesis que las que llevaban el alelo desfavorable para CFEa (B2002), respectivamente (Cuadro 12). El efecto de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* sobre CFE fue significativo ($p < 0,0001$ y $p = 0,004$, respectivamente), pero no se observaron interacciones epistáticas entre ambos QTL ($p = 0,5616$). Las plantas que portaban el alelo favorable para CFE (B19) en los QTL *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* tenían 27,0 y 11,8 más granos por unidad de peso seco de la espiga en antesis que las que llevaban el alelo desfavorable para CFE (B2002), respectivamente (Cuadro 12). Finalmente, el efecto de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* sobre CFEm fue altamente significativo (ambos $p < 0,0001$), mientras que no se observó interacción epistática entre ambos QTL ($p = 0,8162$). Las plantas que portaban el alelo

favorable para CFEm (B19) en los QTL *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* tenían 13,0 y 9,5 más granos por unidad de chaff que las que llevaban el alelo desfavorable para CFEm (B2002), respectivamente (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efectos de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* en diferentes caracteres.

Carácter	Valor	Efecto principal		Interacción 5A x 3A
		<i>BS00083507_51</i> (5A)	<i>wsnp_CAP11_rep_c4226_1995152</i> (3A)	
CFEa	Alelo B19	139,4	133,8	ns
N^a = 557	Alelo B2002	123,7	129,7	
%^b		11%	3%	
Amb^c = 4	<i>p</i>	****	*	
CFE	Alelo B19	137,8	130,2	ns
N = 409	Alelo B2002	110,8	118,4	
%		20%	9%	
Amb = 3	<i>p</i>	****	**	
CFEm	Alelo B19	100,6	98,9	ns
N = 569	Alelo B2002	87,2	89,3	
%		13%	10%	
Amb = 3	<i>p</i>	****	****	
FF	Alelo B19	45,1	44,6	ns
N = 561	Alelo B2002	43,4	43,9	
%		4%	2%	
Amb = 4	<i>p</i>	**	ns	
GST	Alelo B19	0,93	0,90	ns
N = 408	Alelo B2002	0,81	0,84	
%		13%	7%	
Amb = 3	<i>p</i>	****	*	
NG	Alelo B19	40,1	39,3	ns
N = 580	Alelo B2002	36,5	37,3	
%		9%	5%	
Amb = 4	<i>p</i>	****	**	
LE	Alelo B19	90,8	92,9	*
N = 547	Alelo B2002	97,2	95,1	
%		-7%	-2%	
Amb = 4	<i>p</i>	****	**	
NET	Alelo B19	20,7	20,8	ns
N = 562	Alelo B2002	21,4	21,3	
%		-3%	-2%	
Amb = 4	<i>p</i>	****	**	
NEF	Alelo B19	17,1	16,9	ns
N = 563	Alelo B2002	17,0	17,2	
%		1%	-2%	
Amb = 4	<i>p</i>	ns	*	
FFEF	Alelo B19	2,61	2,60	ns
N = 563	Alelo B2002	2,51	2,51	
%		4%	3%	
Amb = 4	<i>p</i>	****	***	
CN	Alelo B19	4,43	4,50	**

N = 547	Alelo B2002	4,56	4,49	
%		-3%	0%	
Amb = 4	<i>p</i>	***	ns	
PSE	Alelo B19	0,361	0,367	ns
N = 564	Alelo B2002	0,384	0,378	
%		-6%	-3%	
Amb = 4	<i>p</i>	***	ns	
CH	Alelo B19	0,422	0,422	ns
N = 727	Alelo B2002	0,444	0,443	
%		-5%	-5%	
Amb = 5	<i>p</i>	**	**	
PG	Alelo B19	35,1	35,2	***
N = 447	Alelo B2002	36,9	36,8	
%		-5%	-5%	
Amb = 3	<i>p</i>	***	**	
RTO	Alelo B19	1,365	1,352	ns
N = 441	Alelo B2002	1,293	1,306	
%		5%	3%	
Amb = 3	<i>p</i>	*	ns	
RTO/PSE	Alelo B19	4,883	4,74	ns
N = 301	Alelo B2002	4,116	4,26	
%		16%	10%	
Amb = 2	<i>p</i>	****	**	

Se presentan los valores medios de cada carácter cuando las líneas presentan uno de los alelos (B19 o B2002) para *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*, así como la diferencia porcentual entre los valores medios. Se indica la significancia estadística del efecto principal de cada QTL (o marcador de pico) y la interacción entre ellos.

Los valores *p* provienen del ANOVA de modelo mixto bidireccional, con el ambiente como variable aleatoria y los dos loci como variables fijas (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; ns diferencias no significativas).

CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (flores fértiles $gPSE^{-1}$), CFE: coeficiente de fertilidad de espiga (granos $gPSE^{-1}$), CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez (granos gCH^{-1}), FF: flores fértiles por espiga (n° espiga $^{-1}$), GST: cuaje de granos (n° granos flor $^{-1}$), NG: número de granos por espiga (n° espiga $^{-1}$), LE: longitud de espiga (mm), NET: número de espiguillas totales por espiga (n° espiga $^{-1}$), NEF: número de espiguillas fértiles por espiga (n° espiga $^{-1}$), FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil (n° espiguilla $^{-1}$), CN: Compactación de la espiga (mm de raquis espiguilla $^{-1}$), PSE: peso seco de espiga en la antesis (espiga g^{-1}), CH: chaff (peso seco de espiga sin grano en madurez, g espiga $^{-1}$), PG: peso de grano (g), RTO: rendimiento por espiga (g espiga $^{-1}$), RTO/PSE: rendimiento/peso seco de espiga en antesis (g $gPSE^{-1}$).

^aNúmero de unidades experimentales medidas.

^bNúmero de ambientes donde se evaluó el carácter.

3.3.3. Resultados fenotípicos de las poblaciones F₂

Para validar los dos QTL identificados, se desarrollaron dos poblaciones F₂ independientes, Pobl 1 para *QFFE.perg-5A* y Pobl 2 para *QFEm.perg-3A* (consulte la sección “Material vegetal y desarrollo de poblaciones”). La fecha media de antesis de ambas poblaciones F₂ tuvo lugar durante el mes de octubre y fue muy cercana entre líneas. Las poblaciones F₂ consistieron en 434 y 490 plantas cada una, y los rasgos fenotípicos mostraron una distribución normal. En la Pobl 1, la media de los tres coeficientes CFEa, CFE y CFEm fue 135 ± 15 flores gPSE⁻¹, 128 ± 23 granos gPSE⁻¹ y 95 ± 15 granos gCH⁻¹, respectivamente (Figura Suplementaria S2 a, b y c). En la Pobl 2, el CFEm medio fue de 92 ± 13 granos gCH⁻¹ (Figura Suplementaria S2d).

De las 434-490 plantas fenotipadas, 264 plantas de Pobl 1 y 220 plantas de Pobl 2 alcanzaron para realizar la validación de los QTL. Además de las poblaciones completas, ambas sub-poblaciones mostraron una distribución normal y cubrieron toda la varianza fenotípica. En la sub-población de Pobl 1, el CFEa varió de 104 a 172 flores gPSE⁻¹ con una media de 132 ± 12 flores gPSE⁻¹, el CFE varió de 72 a 189 granos gPSE⁻¹ con una media de 124 ± 20 granos gPSE⁻¹ y el CFEm varió de 58 a 136 granos gCH⁻¹ con una media de 93 ± 12 granos gCH⁻¹ (Figura Suplementaria S2 e, f y g). En la sub-población de Pobl 2, el CFEm varió de 62 a 122 granos gCH⁻¹ con una media de 92 ± 11 granos gCH⁻¹ (Figura Suplementaria S2h).

3.3.4. Validación de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*

Para validar la posición y el efecto de *QFFE.perg-5A*, se genotipó la población F₂ independiente (Pobl 1) transformando el marcador SNP pico *BS00083507_51* en

marcador KASP (Cuadro Suplementario S2). Como se mencionó antes (ver la sección “Material vegetal y desarrollo de poblaciones”), la Pobl 1 se desarrolló con un fondo genético homogéneo para los principales genes de adaptación segregantes (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*) y se fijó el alelo B19 de *QFEm.perg-3A* para evaluar únicamente el efecto de *QFFE.perg-5A*.

De las 264 plantas de la Pobl 1 utilizadas para la validación, se encontró que 68 fueron homocigotas para el alelo B19, 75 para el alelo B2002 y las 121 plantas restantes fueron heterocigotas para el marcador KASP pico de *QFFE.perg-5A*. Para CFEa, el ANOVA de un factor reveló un efecto significativo del marcador pico de *QFFE.perg-5A* ($p = 0,0003$, Figura 9a). Se detectó un efecto similar para CFE ($p = 0,0009$, Figura 9b) y CFEm ($p = 0,0004$, Figura 9c). En todos los casos, las plantas heterocigotas mostraron menos flores o granos de lo esperado por puro efecto aditivo (CFEa = $-1,35$ flores gPSE^{-1} , CFE = $-2,62$ granos gPSE^{-1} y CFEm = $-2,52$ granos gCH^{-1} , respectivamente). El grado de dominancia (D) (Falconer 1960) del alelo B19 en *QFFE.perg-5A* para aumentar el CFEa, CFE y CFEm fue de $-0,34$, $-0,44$ y $-0,68$, respectivamente, indicativo en todos los casos de recesividad incompleta.

Para validar la posición y el efecto de *QFEm.perg-3A*, se genotipó la población F₂ independiente (Pobl 2) transformando el marcador SNP pico de *QFEm.perg-3A* (*w SNP_CAP11_rep_c4226_1995152*) en marcador KASP (Cuadro Suplementario S2). De manera similar a Pobl 1, la población de Pobl 2 se desarrolló sobre un fondo homogéneo para minimizar el efecto de los genes de fenología. Además, se fijó el alelo de B19 para *QFFE.perg-5A* en la población de segregación para evaluar únicamente el efecto de *QFEm.perg-3A*.

De las 220 plantas, se detectó que 50 fueron homocigotas para el alelo B19, 39 para el alelo B2002 y las 131 plantas restantes fueron heterocigotas para el marcador KASP pico de *QFEm.perg-3A*. El ANOVA de un factor reveló un efecto significativo del marcador KASP de *QFEm.perg-3A* sobre CFEm ($p = 0,0033$, Figura 9d). Las plantas heterocigotas mostraron 0,35 granos gCH^{-1} más de lo esperado por un efecto puramente aditivo, y el grado de dominancia (D) del alelo B19 para el aumento de CFEm fue aproximadamente 0,09, indicativo de dominancia incompleta.

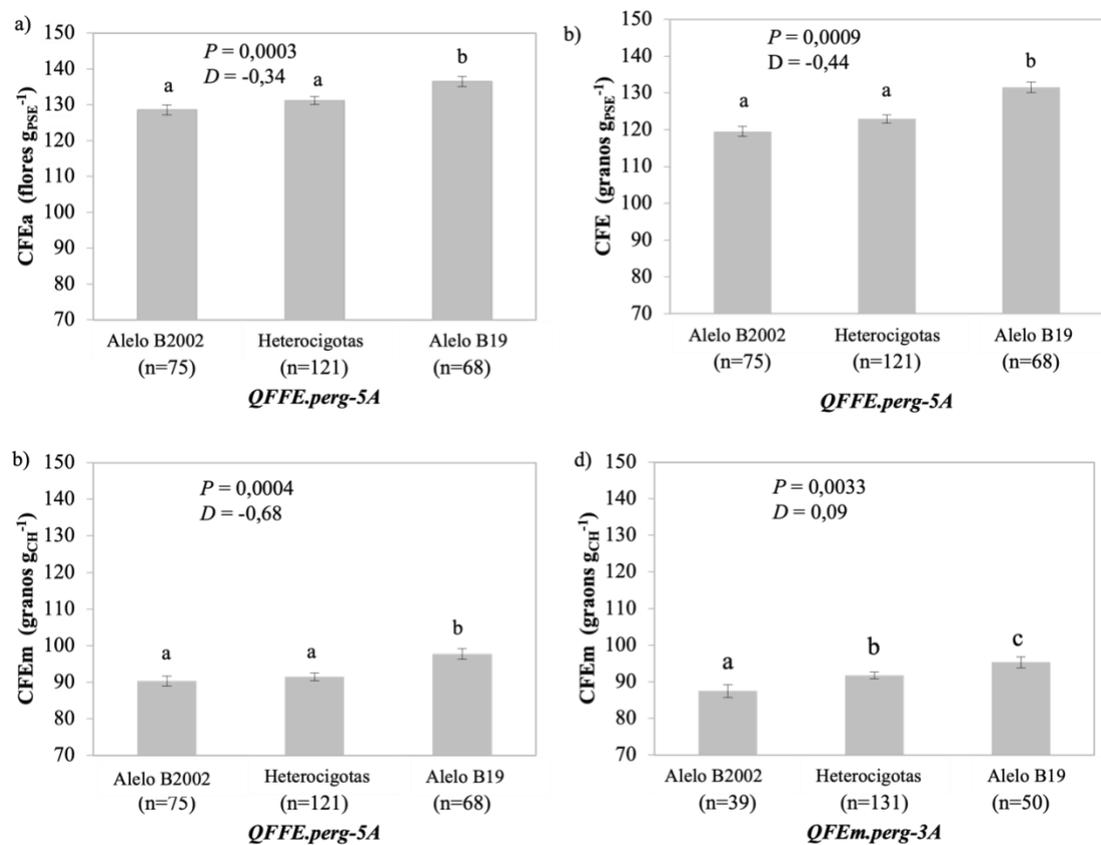


Figura 9. Efectos y grado de dominancia (D) del *QFFE.perg-5A* sobre a) CFEa, b) CFE, c) CFEm, evaluados a partir de 264 plantas F_2 y efectos y grado de dominancia del *QFEm.perg-3A* sobre d) CFEm, de 220 plantas evaluadas F_2 . Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

3.3.5. Efectos pleiotrópicos e interacciones entre *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* sobre otros caracteres de la población B19xB2002

Se analizaron también los efectos de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* y sus interacciones sobre otros caracteres de la población HD relacionados con la determinación de FF y NG (Cuadro 12, Figura 10).

El efecto positivo (+11%) del alelo B19 presente en *QFFE.perg-5A* sobre CFEEa resultó en un aumento del 4% en FF a pesar de la reducción del 6% del PSE (Cuadro 11, Figura 10). El NG también mejoró por la presencia de este alelo en un 9%, no sólo debido al efecto sobre el FF sino también por el incremento del GST en un 13%. Teniendo en cuenta los caracteres de estructura de espiga, las líneas con el alelo B19 presente en *QFFE.perg-5A* tuvieron menor LE y CN, lo que resultó en una reducción del NET. Sin embargo, el NEF no se vio afectado y el FFEF incrementó (+4%), aumentando así el FF (Cuadro 12, Figura 10). Aunque el PG se redujo (-5%) debido a la presencia del alelo de B19, la eficiencia de rendimiento por unidad de peso seco de la espiga en anthesis aumentó un 16% (RTO/PSE), lo que resultó en un rendimiento de +5% por espiga (Cuadro 12, Figura 10).

El alelo de B19 en *QFEm.perg-3A* no mostró ningún efecto sobre el FF o el PSE, a pesar de un ligero aumento en el CFEEa (+3%) (Cuadro 12, Figura 10). Su efecto positivo sobre el CFEm (+10%) y CFE (+9%) resultó en una mayor NG (+5%), aunque el incremento fue menor que el aportado por *QFFE.perg-5A*. Este mayor NG fue consecuencia de un incremento del GST en un 7% porque, como se mencionó anteriormente, el FF fue similar ante la presencia de los alelos B19 y B2002. En forma similar al *QFFE.perg-5A*, la presencia del alelo B19 en *QFEm.perg-3A* resultó en espigas más cortas, con un reducido NET pero, a diferencia del QTL anterior, el NEF también se

redujo y la CN no se modificó. Debido a la reducción del NEF, se observó un aumento en el FFEF, pero resultó en similar FF debido a la reducción del NEF (Cuadro 12, Figura 10). La presencia del alelo de B19 en *QFEm.perg-3A* también redujo el PG (-5%) y aumentó el RTO/PSE (+10%), pero el efecto sobre el rendimiento por espiga mostró sólo una tendencia a aumentar (+3%).

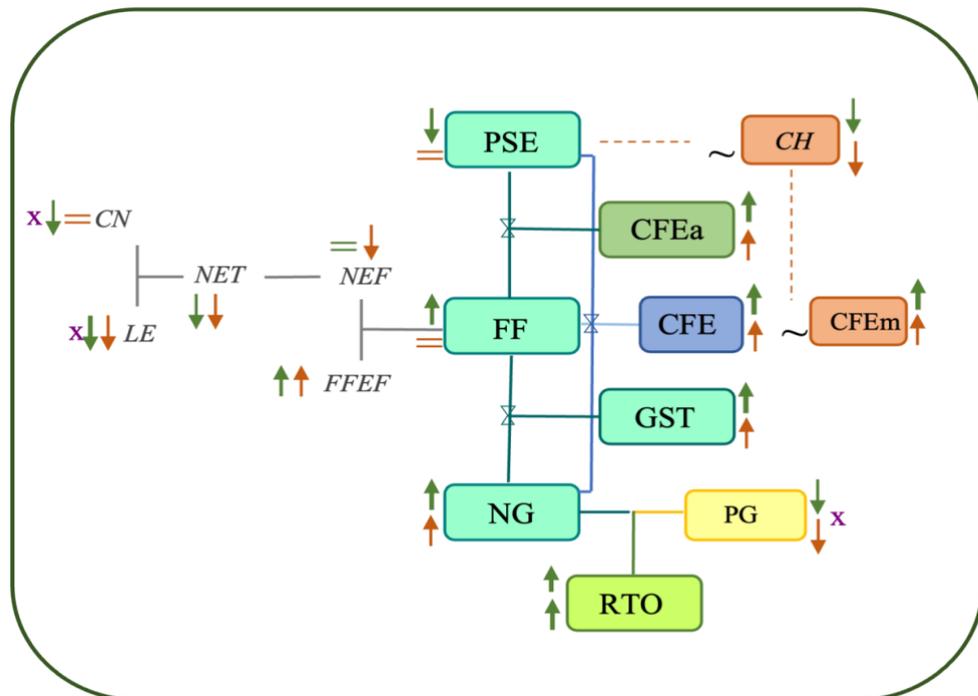


Figura 10. Marco conceptual fisiológico del análisis de las variables medidas que muestra los efectos principales y pleiotrópicos de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*. Los símbolos =, ↑, ↓, X indican sin efecto, incremento o reducción del carácter e interacción entre alelos, respectivamente, mientras que el ancho de las flechas indica la magnitud del efecto. Las flechas verdes representan el efecto de *QFFE.perg-5A*, mientras que las flechas naranjas representan el efecto de *QFEm.perg-3A*. CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, CFE: coeficiente de fertilidad de espiga, CFEm: coeficiente de fertilidad de espiga en madurez, LE: longitud de espiga, NET: número de espiguillas totales por espiga, NEF: número de espiguillas fértiles por espiga, FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil, CN: compactación de la espiga, FF: flores fértiles por espiga, PSE: peso seco de la espiga en antesis, GST: cuaje de granos, NG: número de granos, PG: peso de granos.

Basado en la interacción entre *QFEm.perg-3A***QFFE.perg-5A*, se observaron efectos epistáticos significativos para LE, CN y PG. En el caso de LE, se detectó una interacción epistática significativa con un valor $p = 0,013$ (Cuadro 12). El alelo B2002 en *QFEm.perg-3A* presentó un aumento significativamente mayor en LE con la presencia del alelo B2002 en *QFFE.perg-5A* que con la presencia del alelo B19 (Figura 11a). La CN, se vio significativamente reducida con la presencia del alelo B2002 en *QFEm.perg-3A* y el alelo B19 en *QFFE.perg-5A*. Contrariamente, la CN aumentó significativamente con la presencia del alelo B2002 en *QFFE.perg-5A* ($p = 0,002$, Figura 11b). Finalmente, para PG, el alelo B2002 en *QFEm.perg-3A* aumentó significativamente el PG sólo en presencia del mismo alelo parental (B2002) en *QFFE.perg-5A* ($p = 0,0004$, Figura 11c).

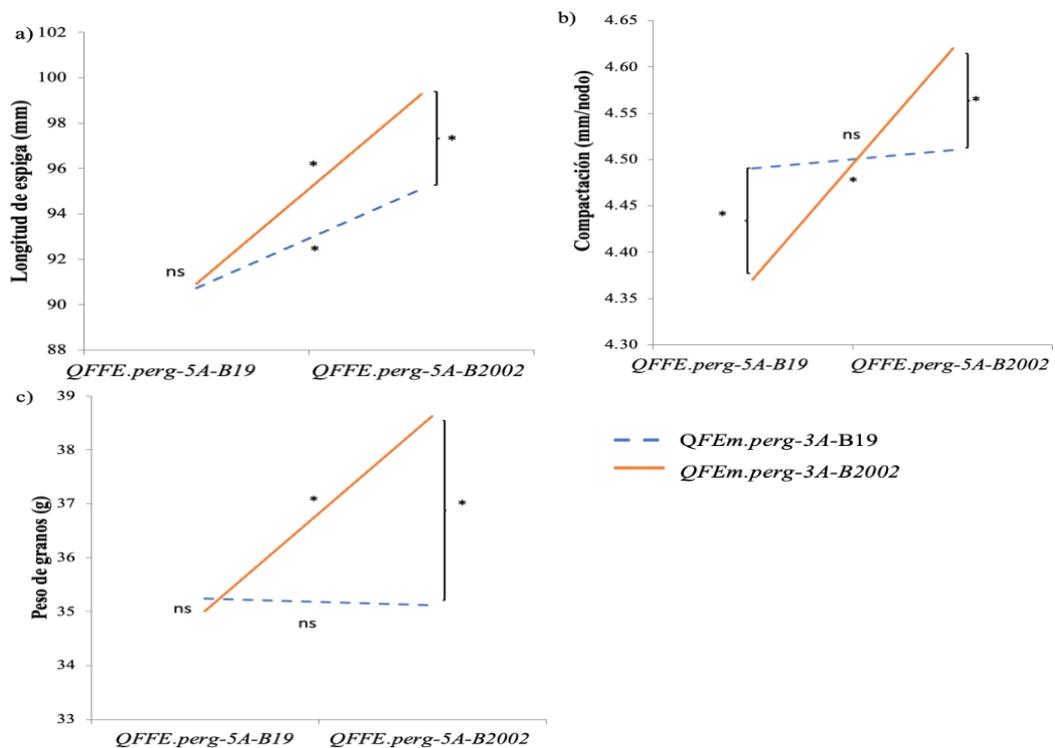


Figura 11. Gráficos de interacción entre *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* en a) LE, b) CN y c) PG. Los asteriscos indican un efecto simple significativo ($p < 0,05$) de cada QTL en presencia de cada alelo del otro QTL, mediante la prueba de Fisher.

3.4. Discusión

El CFE es un carácter prometedor para mejorar el número de granos (y el potencial de rendimiento) en trigo, pero es difícil de medir, principalmente porque el muestreo para obtener el PSE en antesis es destructivo, e imposible de usar en las primeras generaciones de un programa de mejoramiento genético (Fischer y Rebetzke 2018). Por ello, el CFE se ha estimado generalmente en madurez, utilizando el CH como estimador del PSE (CFEm) (por ejemplo, Stapper y Fischer 1990; González et al. 2011b; Martino et al. 2015; Mirabella et al. 2016; Alonso et al. 2018). Sin embargo, como la relación entre CH y PSE es inestable, el uso del CFEm puede producir una estimación incorrecta del CFE (Elía et al. 2016; Pretini et al. 2020a). Por lo tanto, la correlación entre NG y CFEm puede ser peor que entre el NG y el CFE (Elía et al. 2016; Pretini et al. 2020a), lo que resulta en una ganancia menor de NG al seleccionar por CFEm en lugar de CFE (Pretini et al. 2020a). Para la búsqueda de las bases genéticas, en el presente trabajo utilizamos un enfoque fisiológico novedoso basado en Fischer (2011), donde el CFE es el resultado de la eficiencia de fijar flores fértiles por espiga o coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (CFEa) y el cuaje de granos (GST). Hasta donde sabemos, no existen informes previos que estudien las bases genéticas del CFEa. En el presente estudio, identificamos varios QTL asociados a CFEa, CFE y CFEm, lo que indica que estos caracteres están controlados por un sistema genético complejo. Sin embargo, dos de ellos, *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*, demostraron ser estables y mayores y se logró validarlos en poblaciones F₂ independientes.

Estudios anteriores (Guo et al. 2017; Gerard et al. 2019; Basile et al. 2019) se enfocaron sólo en el CFEm usando poblaciones GWAS. Guo et al. (2017) identificaron

una región genómica en el cromosoma 2A (676,2 Mb) asociada con CFEm, que luego se identificó como el gen *GNI-A1* (Sakuma et al. 2019). En el presente estudio se detectó una región en el cromosoma 2A para CFE (770,0 Mb), otra para CFEm (771,5 Mb) en la población BP11xB2002, y una tercera región en el cromosoma 2A (774,1 Mb) para CFEa en la población B19xB2002, las que no se consideraron significativas porque estaban presentes sólo en uno o dos ambientes (Cuadro 10, Cuadro 11). Además, las posiciones de los SNP de ambos trabajos están separadas por 97,9 Mb, lo que descarta al gen *GNI-A1* como candidato para nuestros QTL en el cromosoma 2A. Por otro lado, Gerard et al. (2019) detectaron cuatro SNP en los cromosomas 2A, 2D, 4D y 5A asociados con el CFEm. El SNP asociado al cromosoma 5A se localizó a 698,5 Mb, distanciado a 186 Mb de nuestro intervalo del *QFFE.perg-5A*, lo que sugiere que no sería el mismo QTL.

Finalmente, Basile et al. (2019) trabajando con un pequeño panel de mapeo de asociación con genotipos argentinos detectaron 17 regiones del genoma (haplotipos) asociadas con CFEm y distribuidas en siete cromosomas de trigo (1A, 2A, 3B, 4A, 5A, 6A y 7A). Particularmente, en el cromosoma 5A detectaron dos regiones asociadas; una de ellas comprende un segmento pequeño de 14 Kb a 445,2 Mb y la otra de 0,3 Mb entre 476,4-476,7 Mb. Nuestro QTL *QFFE.perg-5A* se encuentra en el intervalo de 391,4 a 512,2 Mb (± 1 LOD del QTL pico), incluyendo las dos regiones detectadas por Basile et al. (2019). Curiosamente, el cultivar parental que lleva los alelos altos de CFEm utilizados en nuestro estudio de mapeo de QTL (Baguette 19) también se incluyó en el panel de GWAS utilizado por Basile et al. (2019) y mostró los dos haplotipos en el cromosoma 5A asociados con alto CFEm en el experimento GWAS. Esta información contribuye aún más a la validación de la presencia de un QTL estable para CFEm en el cromosoma 5A que se encuentra al menos en frecuencia moderada en el germoplasma de trigo argentino.

En el presente trabajo, basado en un modelo fisiológico, mostramos que el impacto del QTL localizado en el cromosoma 5A (*QFFE.perg-5A*) en el CFEm es de hecho consecuencia de su efecto sobre el CFEa, ya que el QTL fue más estable y mayor para este último carácter. Debido a su asociación con CFEa, *QFFE.perg-5A* exhibió efectos pleiotrópicos sobre algunos caracteres asociados, aumentando el FF, el GST y en consecuencia el NG (Cuadro 11). Las flores fértiles dependen de la partición de asimilados a los primordios de flores en desarrollo (Ghiglione et al. 2008; González et al. 2011a), mientras que el GST generalmente depende del crecimiento post-antesis (Fischer, 1975, 1985), lo cual se pudo apreciar en la población HD utilizada en este trabajo (Pretini et al. 2020a). Como el FF y el GST aumentaron y el PSE y el CH disminuyeron cuando el alelo B19 estaba presente en *QFFE.perg-5A*, su efecto puede estar asociado con una mayor partición de materia seca a las flores en desarrollo/granos, reduciendo así la partición a estructura de espiga. Esta partición reducida a la estructura de la espiga fue acompañada por espigas más cortas (-LE) y menor número de espiguillas totales (-NET) y longitud de raquis entre las espiguillas (-CN), aumentando el número de espiguillas fértiles y flores fértiles por espiguilla fértil (+FS y +FFEF). Estos resultados refuerzan las conclusiones del Capítulo previo, validando aún más la hipótesis (i) (ver Capítulo I). La acción de este alelo *QFFE.perg-5A* parece ser muy diferente a la del gen *GNI-A1*, que sólo aumentó el número de flores fértiles por espiguilla, sin ningún otro cambio en la estructura de la espiga (Sakuma et al. 2019). La reducción del PG cuando el alelo B19 estaba presente en *QFFE.perg-5A* confirma la asociación negativa reportada previamente entre CFE y PG en trabajos publicados (Slafer et al. 2015; Terrile et al. 2017) y en el Capítulo II. De acuerdo con discutido en dicho capítulo, se propone nuevamente que esta relación puede ser consecuencia de un mayor número de flores fértiles colocadas en posiciones distales, que naturalmente tienen menor peso de carpelo y peso potencial de

grano (Calderini et al. 2001). Consideramos esta relación no constitutiva (Slafer et al. 2015) como la más probable porque el FF más alto resultó no sólo en una mayor eficiencia para establecer el rendimiento por unidad de peso de la espiga en antesis, sino también en un mayor rendimiento real.

Ninguno de los reportes anteriores (Guo et al. 2017; Gerard et al. 2019; Basile et al. 2019) detectó un QTL asociado con CFEm en el cromosoma 3A como se logró en el presente trabajo (*QFEm.perg-3A*). Como el FF no mejoró significativamente, a primera vista parece que el efecto *QFEm.perg-3A* sólo se asoció con el incremento en el GST, lo que resultó en un mayor NG. El GST generalmente no se considera un rasgo relevante que determina el NG en el trigo semi-enano en condiciones de crecimiento potencial porque suele ser alto, es decir, > 80% (Siddique et al. 1989b; González et al. 2003; Elía et al. 2016), pero con los resultados del presente trabajo parece ser más relevante de lo esperado. Utilizando las dos poblaciones HD presentadas en la Figura 7, Pretini et al. (2020a) (Capítulo I) mostraron una alta correlación entre el NG y el GST y, además, entre el CFE y el GST. Sin embargo, cuando se analizaron en detalle los efectos pleiotrópicos de *QFEm.perg-3A*, se pudo observar que la presencia del alelo B19 tuvo un efecto positivo sobre el CFEa (+2% FF y -3% PSE) y el CFE (+5% GN y -3% PSE), pero fue 3,6 y 2,2 veces menor, respectivamente, que el del QTL del cromosoma 5A (*QFFE.perg-5A*). Entonces, aunque algunos de los efectos de *QFEm.perg-3A* no fueron estadísticamente significativos en antesis, nuestra hipótesis es que los procesos fisiológicos que tienen lugar son similares a los descritos para *QFFE.perg-5A* (es decir, la regulación de la partición de asimilados dentro de la espiga en antesis). Pero, como el efecto del *QFEm.perg-3A* fue menor en antesis y más asociado a GST que a FF, lo detectamos en madurez, es decir cuando se acumulan todos los efectos pleiotrópicos

(Figura 10). Es de destacar que casi no se observó interacción entre ambos QTL para la mayoría de las variables medidas, lo que sugiere que sus efectos positivos pueden ser aditivos.

Los genes dentro de las regiones correspondientes (± 2 LOD de distancia de los marcadores pico máximos) se analizaron en función al genoma de referencia de trigo IWGSC Ref. Seq. v1.0. La región *QFEm.perg-3A* contiene 574 genes y la región *QFFE.perg-5A* contiene 1556 genes según Appels et al. (2018). El desarrollo de un mapa genético saturado en esas regiones será necesario para identificar genes candidatos en estudios futuros.

3.5. Conclusión

En el presente Capítulo se identificaron 35 QTL en BP11xB2002 y 37 QTL en B19xB2002 para los coeficientes de fertilidad de espiga, distribuidos a lo largo del genoma de trigo. Sin embargo, sólo tres de ellos son considerados fueron mayores y estables, precediéndose a la validación de dos (*QFEm.perg-3A* y *QFFE.perg-5A*). La validación se realizó en dos poblaciones F_2 independientes, mostrando un grado de recesividad incompleta en *QFFE.perg-5A* y de dominancia incompleta en *QFEm.perg-3A*. Estos dos QTL son novedosos ya que no habían sido detectados anteriormente. La presencia del alelo favorable proveniente del cultivar Baguette 19 para CFE en ambos QTL resultó en considerables incrementos del rendimiento de la espiga. Por lo que los marcadores pico detectados para ambos QTL podrían ser utilizada por los programas de mejoramiento a través la selección asistida por marcadores para así mejorar los rendimientos potenciales de trigo. En base a estas conclusiones podemos decir que la hipótesis (iii) “*Existen regiones genómicas o QTL con efecto mayor y estable sobre el*

CFEa y CFE capaz de ser detectados a cosecha (CFEm)” y (iv) “El QTL más promisorio para CFEa y/o CFE y/o CFEm es posible de ser validado en una población independiente, permitiendo la estimación de su relación de dominancia” no pueden ser rechazadas.

Por otro lado, ambos QTL validados mejoraron la fertilidad de las espiguillas (FFEF), y redujeron la longitud de la espiga (LE), y los mm de raquis entre espiguillas (CN), reduciendo el peso seco de la espiga en antesis (PSE) y el chaff a madurez (CH). En base a estas conclusiones, la hipótesis (v) *“El QTL más promisorio que produce un incremento del CFEa y/o CFE y/o CFEm aumenta la fertilidad de las espiguillas (siguiendo el procedimiento planteado en la hipótesis i), reduce el peso seco de la espiga en antesis e incrementa el rendimiento por espiga a pesar de disminuir el peso de los granos”* tampoco es rechazada.

**CAPÍTULO IV: Detección de QTL para caracteres estructurales y numéricos de la
fertilidad de espiga⁽⁵⁾**

⁽⁵⁾Los principales resultados de este capítulo se encuentran publicados en Pretini N, Vanzetti LS, Terrile II, Donaire G, González FG. 2020a. Mapping QTL for spike fertility and related traits in two doubled haploid wheat (*Triticum aestivum L.*) populations. BMC Plant Biology, 21, 353, doi.org/10.1186/s12870-021-03061-y.

4.1. Introducción

Como se comentó en Capítulos previos, el mejoramiento del rendimiento potencial de trigo se ha basado en la selección empírica del rendimiento *per se* debido a la complejidad del carácter y la falta de conocimiento y herramientas útiles con aplicabilidad real en los programas de mejoramiento (Snape y Moore 2007). Esta selección generalmente resultó en más granos por espiga (NG) y, por lo tanto, mayor cantidad de granos por unidad de área (no se observó una tendencia consistente en espigas por unidad de área) (Waddington et al. 1986; Perry y D'Antuono 1989; Siddique et al. 1989a; Slafer y Andrade 1989; Slafer y Andrade 1993; Acreche et al. 2008; Del Pozo et al. 2014; Lo Valvo et al. 2018). El peso del grano (PG) no mostró cambios con el mejoramiento; a excepción de algunos reportes recientes donde el rendimiento potencial se asoció positivamente con su incremento (Sadras y Lawson 2011; Aisawi et al. 2015; Yao et al. 2019). Abundante literatura sugiere que el proceso de selección podría ser más eficiente utilizando marcadores moleculares. La implementación de marcadores polimórficos de nucleótido simple (SNP, del inglés *Single-Nucleotide Polymorphism*) en los planes de mejoramiento ha aumentado el ritmo y la precisión del análisis genético en plantas, lo que a su vez facilitó la implementación de la mejora molecular de cultivos (Mammadov et al. 2012). Los marcadores SNP se utilizan cada vez más para estudios de mapeo de QTL ya que son las variaciones más frecuentes en el genoma y proporcionan una alta resolución del mapa (Bhatramakki et al. 2002; Jones et al. 2007; Mammadov et al. 2012). Por lo tanto, la identificación, comprensión e incorporación de QTL relacionados con el rendimiento y sus determinantes podría ser una herramienta de selección útil para un programa de mejoramiento.

Los enfoques más comunes que buscan bases genéticas asociadas al rendimiento potencial se basan en el análisis de los componentes numéricos NG y PG. El NGse entiende como el resultado del total de espiguillas por espiga (NET) y los granos por espiguilla, estando los primeros asociados a la longitud de la espiga (LE) y su compactación (CN). Se han reportado varios QTL para PG, NG y sus componentes numéricos durante los últimos años. Muchos estudios identificaron QTL estables para estos caracteres distribuidos en todo el genoma de trigo (ver Cuadro Suplementario S5). Sin embargo, considerando el genoma de referencia de trigo IWGSC Ref. Seq. V1.0 (Appels et al. 2018) se identificaron algunos QTL reportados por distintos autores, para el mismo carácter y que se encuentran en la misma posición (Cuadro 13). Por ejemplo, se detectó un QTL para PG en 6 estudios en el cromosoma 7A (Li et al. 2015; Wang et al. 2017; Daba et al. 2018; Li et al. 2018; Ma et al. 2018; Guan et al. 2018) (Cuadro 13). Se detectaron otros dos QTL importantes para LE en los cromosomas 2D y 5A (Börner et al. 2002; Wu et al. 2012; Xu et al. 2014; Zhai et al. 2016; Chen et al. 2017; Deng et al. 2017; Li et al. 2018; Guo et al. 2018; Fan et al. 2019) (Cuadro 13). Además, se detectaron dos QTL para NET en los cromosomas 5A y 7A en varios estudios (Jantasuriyarat et al. 2004; Ding et al. 2011; Wang et al. 2011; Cui et al. 2012; Wu et al. 2012; Cui et al. 2012; Wu et al. 2012; Xu et al. 2014; Zhai et al. 2016; Ma et al. 2018; Fan et al. 2019) (Cuadro 12).

Cuadro 13. QTL significativos detectados en diferentes estudios que comparten intervalo de posiciones de acuerdo con la secuencia Chinese Spring RefSeq v1.0.

Carácter ^a	Cr. ^b	Posición (Mb)	Bibliografía
NG	1B	16,2-55,4	Zhai et al. 2017; Li et al. 2018
	3A	705,3-749,1	Gao et al. 2015; Guan et al. 2018; Pang et al. 2020
	3B	584,6-649,5	Guo et al. 2018; Pang et al. 2020

	4A	603,3-685,0	Börner et al. 2002; Gao et al. 2015; Chen et al. 2017; Guan et al. 2018; Pang et al. 2020
	4B	16,8-98,7	Li et al. 2015; Li et al. 2018; Pang et al. 2020
	7A.1	81,1-167,3	Zhai et al. 2017; Li et al. 2018
	7A.2	670,2-719,6	Li et al. 2015; Guo et al. 2017; Li et al. 2018; Guan et al. 2018
	7B	716,6-740,0	Li et al. 2018; Liu et al. 2018
PG	1B	566,0-679,4	Guan et al. 2018; Sukumaran et al. 2018; Gerard et al. 2019; Pang et al. 2020
	2A.1	7,5-28,3	Wang et al. 2009; Gerard et al. 2019
	2A.2	639,1-751,0	Guan et al. 2018; Ma et al. 2018; Sukumaran et al. 2018
	2D	296,4-382,2	Cuthbert et al. 2008; Wu et al. 2012; Yu et al. 2018
	3A.1	29,6-58,5	Li et al. 2018; Sukumaran et al. 2018
	3A.2	344,4-430,1	Xu et al. 2014; Wang et al. 2009
	3A.3	732,4-761,5	Cuthbert et al. 2008; Zhai et al. 2017
	4A	607,9-685,0	Ding et al. 2011; Tang et al. 2011; Gao et al. 2015; Guan et al. 2018
	4B.2	17,0-46,6	Li et al. 2018; Pang et al. 2020
	4B.1	236,7	Chen et al. 2017; Wang et al. 2011
	4D	12,8-62,5	Chen et al. 2017; Guan et al. 2018; Li et al. 2018
	5A.1	462,9-495,9	Cuthbert et al. 2008; Li et al. 2018; Sukumaran et al. 2018
	5A.2	524,2-619,0	Wang et al. 2017; Li et al. 2018; Sukumaran et al. 2018
	5A.3	656,0-682,7	Kato et al. 2000; Börner et al. 2002; Chen et al. 2017
	5B.1	27,2-47,6	Zhai et al. 2017; Pang et al. 2020
	5B.2	411,8-418,8	Zhai et al. 2016; Deng et al. 2017
	6A.1	38,4-80,0	Zhai et al. 2017; Guan et al. 2018
	6A.2	442,4-465,9	Zhai et al. 2017; Li et al. 2018
	6B	20,8-67,9	Tang et al. 2011; Li et al. 2018
		7A.1	85,7-116,0
	7A.2	664,3-719,6	Li et al. 2015; Wang et al. 2017; Daba et al. 2018; Li et al. 2018; Ma et al. 2018; Guan et al. 2018
	7B	683,5-734,3	Gao et al. 2015; Li et al. 2018; Ma et al. 2018
NET	1A	398,6-399,5	Chen et al. 2017; Zhou et al. 2017
	2A	14,3-37,2	Ding et al. 2011; Gerard et al. 2019
	2D.1	19,6-38,3	Ma et al. 2014; Ma et al. 2018; Gerard et al. 2019

	2D.2	398,6-416,8	Zhou et al. 2017; Gerard et al. 2019	
	2D.3	628,9-794,9	Zhou et al. 2017; Gerard et al. 2019	
	4A	535,4-630,9	Jantasuriyarat et al. 2004; Chen et al. 2017; Ma et al. 2018	
	5A	671,4-698,2	Ding et al. 2011; Wang et al. 2011; Cui et al. 2012; Wu et al. 2012	
	7A	626,1-692,3	Jantasuriyarat et al. 2004; Ding et al. 2011; Xu et al. 2014; Zhai et al. 2016; Ma et al. 2018; Fan et al. 2019	
	7B	622,3-718,9	Ma et al. 2018; Fan et al. 2019; Pang et al. 2020	
	7D	127,3-263,0	Ma et al. 2007; Yao et al. 2019	
LE	1B	302,0-406,3	Börner et al. 2002; Jantasuriyarat et al. 2004	
	2B	7,9-31,6	Cui et al. 2012; Zhai et al. 2016	
	2D	17,6-99,4	Wu et al. 2012; Xu et al. 2014; Zhai et al. 2016; Chen et al. 2017; Deng et al. 2017; Li et al. 2018; Ma et al. 2018	
	3B.1	25,4-52,8	Cui et al. 2012; Li et al. 2018; Pang et al. 2020	
	3B.2	577,8-649,5	Guo et al. 2018; Pang et al. 2020	
	4A.1	499,4-575,0	Guo et al. 2018; Li et al. 2018	
	4A.2	603,3-688,1	Börner et al. 2002; Wang et al. 2011; Gao et al. 2015; Chen et al. 2017	
	4B	36,7-54,7	Li et al. 2018; Pang et al. 2020	
	5A	470,0-541,3	Börner et al. 2002; Zhai et al. 2016; Guo et al. 2018; Li et al. 2018; Fan et al. 2019	
	6B	667,8-705,4	Deng et al. 2017; Li et al. 2018	
	7D	127,3-137,3	Ma et al. 2007; Yao et al. 2019	
	CN	2D	14,4-23,0	Xu et al. 2014; Zhai et al. 2016
		3B	25,4-32,8	Cui et al. 2012; Pang et al. 2020
5A		478,6-541,2	Zhai et al. 2016; Fan et al. 2019	
5B		261,8-406,9	Xu et al. 2014; Pang et al. 2020	
NEF	1A	243,4-497,5	Zhou et al. 2017; Ma et al. 2018	
	1B	16,2-222,6	Zhai et al. 2016; Deng et al. 2017	
	2A	16,6-56,8	Gerard et al. 2019; Ma et al. 2018	
	2B	9,0-182,4	Deng et al. 2017; Ma et al. 2018	
	2D	19,6-88,6	Ma et al. 2018; Gerard et al. 2019	
	7A	632,6-675,3	Ma et al. 2018; Fan et al. 2019	

^aNG: número de granos por espiga, PG: peso de grano, NET: número de espiguillas total por espiga, LE: longitud de espiga, CN: compactación de la espiga, NEF: número de espiguillas fértiles por espiga.

^bLos QTL superpuestos en una región de 50 Mb de acuerdo con la secuencia Chinese Spring RefSeq v1.0 fueron considerados como iguales.

Desde el enfoque de la fisiología del cultivo, el NG depende de las flores que alcanzan la etapa fértil en antesis (flores fértiles por espiga, FF) y de la proporción de ellas que cuajan granos (GST, granos por flores fértiles). Ambos dependen de la disponibilidad de asimilados, el primero para la espiga en crecimiento y flores en desarrollo durante los 20 días previos a la antesis (Fischer 1975; Kirby 1988; González et al. 2011a), y el segundo durante los 10 días posteriores a la misma (Fischer 1975, 1985). Esto explicaría la gran importancia en la determinación del NG y FF de: (i) el peso seco de la espiga alcanzado en antesis (PSE) (Fischer y Stockman 1980; Siddique et al. 1989a; Slafer y Andrade 1993; Fischer 1993); y (ii) la partición de materia seca dentro de la espiga entre las flores/granos y las partes de la estructura de la espiga, es decir, la fertilidad de espiga en antesis (CFEa, flores fértiles por g de PSE) (Pretini et al. 2020a) y la fertilidad de espiga considerando granos (CFE, granos por g de PSE, o granos CFEm por g de chaff en madurez) (Abbate et al. 1998; Bustos-Korts et al. 2013; García et al. 2014; Elía et al. 2016; Terrile et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018; Pretini et al. 2020a). Recientemente se observó que, en los cultivares de élite modernos, el PSE es menos importante para explicar la variación de NG que la fertilidad de espiga (Abbate et al. 1998; Rivera-Amado et al. 2019; Bustos-Korts et al. 2013; García et al. 2014; Deng et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018; Terrile et al. 2017; Pretini et al. 2020a). Se considera que el GST es alto en cultivares relativamente modernos (es decir, > 80% flores fértiles que llegan a grano) (Elía et al. 2016; González et al. 2003; Siddique et al. 1989a), pero recientemente se mostró que puede ser menor, hasta de un 60% (Guo et al. 2017; Pretini et al. 2020a, Capítulo II). Entonces, la cantidad de asimilados distribuidos dentro de la espiga en granos o chaff (CH) o sus estructuras (gluma, lema, pálea, aristas GLPA- y

raquis R-) y el GST y el PSE son atributos importantes de estudio. Sólo unos pocos trabajos previos buscaron las bases genéticas de estos rasgos (Guo et al. 2017; Li et al. 2018; Gerard et al. 2019; Basile et al. 2019; Pretini et al. 2020b) (Cuadro suplementario S5).

En el Capítulo anterior, identificamos y validamos el nuevo *QFEm.perg-3A* para CFEm en el cromosoma 3A, y el primer QTL conocido para CFEm y CFE, *QFFE.perg-5A*, ubicado en el cromosoma 5A. Este último QTL también se detectó cuando se midió el CFEm, coincidiendo con Basile et al. (2019), que detectaron dos regiones dentro de este QTL asociadas a CFEm. A pesar de que estudiamos el efecto pleiotrópico de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* sobre los rasgos asociados a la fertilidad de espiga mencionados anteriormente, no buscamos nuevos QTL importantes y estables para esos rasgos en sí mismos.

El presente Capítulo busca cumplir con los objetivos específicos (v) y (vi) mediante la identificación de QTL estables y mayores para los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga y la determinación de las relaciones epistáticas entre ellos y con los QTL para fertilidad de espiga *QFEm.perg-3A* y *QFFE.perg-5A* reportados previamente. Para ello se utilizaron ambas poblaciones haploides duplicadas, BP11xB2002 y B19xB2002.

4.2. Materiales y Métodos

Para el desarrollo del presente Capítulo se utilizaron ambas poblaciones haploides duplicadas descritas en el Capítulo II (BP11xB2002 y B19xB2002), y los datos

fenotípicos medidos y reportados en dicho capítulo para los caracteres: LE, NET, CN, FF, NEF, FFET, FFEF, R, GLPA, CH, NG, PG (ver cuadro 14).

Como describimos en el capítulo previo (Capítulo III) ambas poblaciones fueron genotipadas con un chip iSelect 90K SNP (Wang et al. 2014). El criterio de análisis de los QTL detectados para todos los caracteres analizados de ambas poblaciones en el presente Capítulo fue el mismo que el utilizado para la detección de QTL para coeficiente de fertilidad de espiga en el capítulo previo.

Con el fin de analizar las posibles interacciones epistáticas entre dos QTL para un mismo carácter que estuvieran presentes en la misma población, se realizó un ANOVA factorial considerando los marcadores pico como variables del modelo.

Para crear los gráficos de los mapas de ligamiento se utilizó el software Mapchart 2.32 (Voorrips 2002) en base a la información de los mapas obtenida en el Capítulo III. Estos gráficos se componen de una secuencia de barras verticales que representan los cromosomas y junto a las barras se indican los intervalos QTL (± 1 LOD). Se delinearon regiones *hot-spot* considerando la presencia de dos o más QTL en cada región.

4.3. Resultados

4.3.1. Mapeo de QTL

Se identificaron un total de 305 QTL en 5 ambientes y el BLUE distribuidos en los 21 cromosomas (Cuadro Suplementario S6). Sin embargo, sólo 28 QTL fueron estables y mayores. Estables por encontrarse presentes en al menos 3 ambientes individuales (considerando el análisis de BLUE como un ambiente) con un LOD $> 2,5$ considerando una o ambas poblaciones, pero con el aporte del mismo germoplasma

(Baguette o B2002), y mayores por poseer un $R^2 > 10\%$ en al menos un ambiente (Cuadro 14). Los QTL estables y mayores se distribuyeron en los cromosomas 1A, 2A, 2B, 2D, 3A, 3B, 5A, 5B, 6A, 6B, 7A y 7B (Cuadro 14).

Para LE se detectaron 19 QTL (Cuadro Suplementario S6), sin embargo, sólo tres de ellos, localizados en los cromosomas 2B (*QSL.perg-2B*), 5A (*QSL.perg-5A*) y 7A (*QSL.perg-7A*), se consideraron mayores y estables. Tanto *QSL.perg-2B* como *QSL.perg-7A* se detectaron en BP11xB2002 mientras que *QSL.perg-5A* estuvo presente en B19xB2002 (Cuadro 14). El alelo que aportó una mayor LE siempre provino de B2002 con un efecto aditivo que varió de 3,1 a 3,8 mm para *QSL.perg-2B*, de 2,0 a 4,0 mm para *QSL.perg-5A* y de 2,2 a 4,3 mm para *QSL.perg-7A* (Cuadro 14). Se detectó interacción epistática significativa entre *QSL.perg-2B* y *QSL.perg-7A* ($p = 0,042$). La presencia del alelo de BP11 en *QSL.perg-7A* produjo una reducción mayor de LE cuando estuvo acompañado por la presencia del alelo del mismo padre (BP11) para *QSL.perg-2B* (Figura 12).

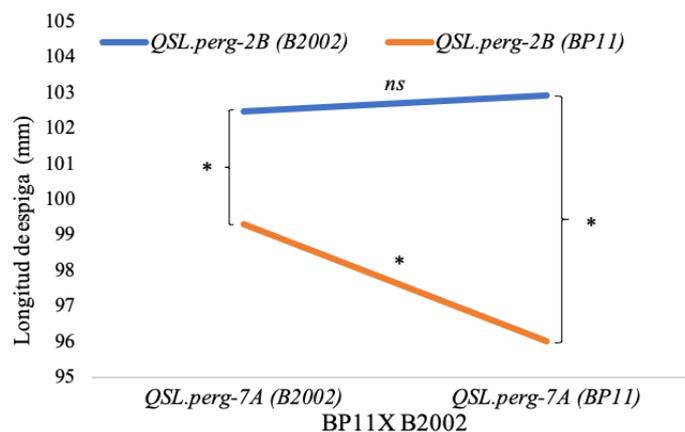


Figura 12. Gráficos de interacción bidireccional para LE entre *QSL.perg-2B* y *QSL.perg-7A*. Un asterisco indica un efecto simple significativo ($p < 0,05$) de cada QTL en presencia de cada alelo del otro gen, mediante la prueba de Fisher.

Cuadro 14. QTL estables y mayores identificados para caracteres relacionados con la fertilidad de espiga en ambas poblaciones.

Car. ^a	QTL	Pobl. ^b	Amb. ^c	Marcador pico	Posición Genética (cM)	Posición física (Mb)	LOD	Ad ^d	R ² (%)
LE	QSL.perg-2B	BP11xB2002	B	<i>wsnp_Ex_rep_c70228_69172301</i>	77,6	389,5	4,8	-3,2	16
			E1	<i>RAC875_c27297_2153</i>	78,6	385,2	3,62	-3,8	12
			E2	<i>RAC875_c27297_2153</i>	78,6	385,2	5,12	-3,1	17
	QSL.perg-5A	B19xB2002	E5	<i>BS00022003_51</i>	41,2	444,8	2,84	-2,0	8
			E2	<i>wsnp_Ex_c19647_28632894</i>	44,2	470,0	3,68	-2,4	12
			E3	<i>Kukri_rep_c72046_78</i>	48,8	512,2	7,99	-4,0	24
			B	<i>Kukri_rep_c72046_78</i>	48,8	512,2	9,56	-3,4	28
			E1	<i>BS00022818_51</i>	49,3	524,2	4,5	-3,9	15
			E3	<i>Tdurum_contig16244_105</i>	36,1	68,9	6,57	-3,7	17
	QSL.perg-7A	BP11xB2002	B	<i>wsnp_Ku_c57198_60433631</i>	42,2	78,4	3,99	-2,7	12
			E2	<i>wsnp_Ra_rep_c69620_67130107</i>	45,1	85,6	2,92	-2,2	9
			E1	<i>wsnp_Ra_rep_c69620_67130107</i>	46,1	85,6	3,41	-4,3	15
NET	QTS.perg-2D	BP11xB2002	E3	<i>Tdurum_contig17626_210</i>	60,5	571,5	5,02	-0,9	24
			E2	<i>Tdurum_contig17626_210</i>	65,5	571,5	4,43	-0,8	17
			B	<i>Tdurum_contig17626_210</i>	68,1	571,5	8,32	-0,8	21
			E1	<i>RAC875_c11093_174</i>	82,4	590,1	10,12	-1,0	25
	QTS.perg-3A	B19xB2002	E5	<i>RAC875_c77648_367</i>	3,4	12,2	5,99	-1,0	16
			B	<i>Excalibur_c62042_175</i>	5,4	13,9	5,79	-0,7	17
			E1	<i>Kukri_rep_c75764_60</i>	8,1	20,1	5,02	-0,8	21
	QTS.perg-7A	BP11xB2002	B	<i>Ku_c68368_1724</i>	138,1	701,6	3,82	-0,5	8
			E1	<i>wsnp_Ku_c16022_24798741</i>	143,2	725,9	3,02	-0,5	6
		B19xB2002	E3	<i>IAAV6957</i>	90,5	675,2	5,96	-0,6	20
CN	QCN.perg-2A	BP11xB2002	E3	<i>BS00091763_51</i>	83,0	773,2	3,82	-0,13	14
			E1	<i>BobWhite_c17113_240</i>	81,1	751,6	3,06	-0,13	11
		B19xB2002	B	<i>Excalibur_c35919_107</i>	83,7	754,5	5,07	-0,15	17
			E5	<i>wsnp_Ex_c2137_4014287</i>	86,6	755,9	4,88	-0,20	15

<i>QCN.perg-5A</i>	BP11xB2002	E2	<i>wsnp_Ex_c24215_33462239</i>	57,1	526,6	9,44	-0,16	31		
		B	<i>wsnp_Ex_c24215_33462239</i>	57,1	526,6	9,46	-0,16	27		
	B19xB2002	E3	<i>Kukri_rep_c72046_78</i>	48,8	512,2	5,48	-0,13	20		
FF	<i>QFF.perg-2B</i>	BP11xB2002	E3	<i>JD_c10643_840</i>	89,6	683,2	4,85	-3,8	15	
		B19xB2002	E3	<i>Tdurum_contig12879_1200</i>	64,2	712,6	7,85	-3,8	31	
			E2	<i>Kukri_rep_c68903_301</i>	65,1	730,2	7,15	-3,3	33	
	<i>QFF.perg-7B</i>	B19xB2002	B	<i>Kukri_rep_c68903_301</i>	65,7	730,2	8,67	-2,7	33	
			B	<i>Kukri_c51101_351</i>	61,2	630,1	5,12	1,7	16	
			E3	<i>Tdurum_contig47633_304</i>	65,2	659,7	3,00	2,1	10	
NEF	<i>QFS.perg-2B</i>	BP11xB2002	E1	<i>Tdurum_contig4658_106</i>	71,7	680,2	4,56	3,6	17	
			E3	<i>BS00064318_51</i>	86,8	686,0	8,01	-0,8	20	
		B19xB2002	E3	<i>Tdurum_contig12879_1200</i>	64,2	712,6	3,28	-0,4	11	
	E2		<i>RAC875_c81984_707</i>	64,6	719,8	4,57	-0,5	17		
	<i>QFS.perg-3A</i>	B19xB2002	B	<i>RAC875_c81984_707</i>	64,6	719,8	4,64	-0,4	16	
			E3	<i>Excalibur_c62042_175</i>	5,4	13,9	3,28	-0,4	12	
			E2	<i>Kukri_rep_c75764_60</i>	8,1	20,1	2,83	-0,4	10	
	<i>QFS.perg-5B</i>	BP11xB2002	E1	<i>BS00049032_51</i>	10,6	25,9	5,37	-0,8	23	
			E2	<i>RFL_Contig5461_683</i>	48,7	580,4	8,67	-0,9	32	
B			<i>RFL_Contig5461_683</i>	48,7	580,4	4,36	-0,5	11		
FFET	<i>QFFTS.perg-5A</i>	BP11xB2002	E2	<i>Vrn-B1: Excalibur_c5329_1335</i>	65,3	580,7	4,17	-0,5	14	
			E3	<i>wsnp_Ex_c24215_33462239</i>	57,1	526,6	3,25	0,11	10	
		B19xB2002	E3	<i>wsnp_CAP11_c1740_947838</i>	51,3	536,7	4,17	0,10	17	
	E1		<i>RAC875_rep_c107228_92</i>	70,5	567,7	3,12	0,13	14		
	<i>QFFTS.perg-5B</i>	BP11xB2002	B	<i>RAC875_rep_c107228_92</i>	70,5	567,7	3,24	0,09	13	
			E2	<i>wsnp_Ku_c35090_44349517</i>	9,3	34,3	5,68	0,09	18	
			E1	<i>Kukri_rep_c71114_838</i>	12,9	70,3	3,93	0,14	13	
	FFEF	<i>QFFFS.perg-7B</i>	B19xB2002	B	<i>Kukri_rep_c71114_838</i>	12,9	70,3	8,53	0,15	30
				E3	<i>Ex_c68034_498</i>	15,0	21,5	6,06	0,16	21
B				<i>BS00063208_51</i>	61,7	637,6	5,69	0,09	19	
		E3	<i>Kukri_c100592_82</i>	62,7	648,1	4,41	0,10	16		

		E1	<i>RAC875_c60191_114</i>	71,7	697,1	5,06	0,15	22	
	<i>QR.perg-2A</i>	BP11xB2002	E1	<i>wsnp_CAP8_c1580_908907</i>	19,6	33,3	8,51	0,008	27
			B	<i>wsnp_CAP8_c1580_908907</i>	19,6	33,3	5,91	0,004	15
		B19xB2002	E5	<i>Kukri_c17467_2711</i>	0,0	4,7	2,54	0,003	5
R	<i>QR.perg-3B</i>	BP11xB2002	E2	<i>Jagger_c522_55</i>	66,2	730,2	5,21	0,004	16
			E3	<i>Kukri_rep_c94476_152</i>	77,7	745,7	3,12	0,010	23
			E4	<i>CAP12_c2348_133</i>	86,1	732,4	4,62	0,004	16
			B	<i>Excalibur_c18410_136</i>	89,3	752,1	7,65	0,005	21
	<i>QR.perg-6A</i>	BP11xB2002	E3	<i>Tdurum_contig100733_89</i>	33,7	22,0	4,91	-0,008	19
B			<i>RFL_Contig2954_548</i>	69,5	23,9	4,19	-0,003	7	
		B19xB2002	E1	<i>BobWhite_c3714_659</i>	47,0	8,0	2,66	-0,006	11
			B	<i>BS00083630_51</i>	52,8	5,6	7,02	-0,006	27
	<i>QGLPA.perg-1A</i>	B19xB2002	B	<i>wsnp_Ex_c4310_7770452</i>	144,4	464,3	10,85	-0,027	33
			E1	<i>RAC875_c53185_802</i>	148,4	480,5	5,84	-0,030	21
			E4	<i>RAC875_c53185_802</i>	148,4	480,5	5,70	-0,033	22
	<i>QGLPA.perg-3A</i>	B19xB2002	B	<i>Excalibur_c46600_919</i>	44,9	648,0	2,54	-0,011	6
			E1	<i>Kukri_c18420_705</i>	51,2	663,2	3,13	-0,019	9
			E5	<i>Tdurum_contig15928_135</i>	75,0	709,1	3,98	-0,024	11
GLPA	<i>QGLPA.perg-5B</i>	BP11xB2002	B	<i>RAC875_c60758_623</i>	64,3	597,2	5,11	0,018	13
			E3	<i>BS00037023_51</i>	72,3	654,5	3,15	0,041	15
		B19xB2002	E5	<i>Tdurum_contig13773_321</i>	69,4	595,7	6,51	0,036	24
	<i>QGLPA.perg-7A</i>	BP11xB2002	B	<i>Kukri_c64330_58</i>	33,3	62,9	3,02	-0,013	7
E3			<i>Tdurum_contig82510_556</i>	37,5	76,9	2,95	-0,033	10	
		B19xB2002	E1	<i>IACX17522</i>	34,8	57,9	3,73	-0,025	11
			B	<i>wsnp_Ex_c4310_7770452</i>	144,2	464,3	9,55	-0,029	29
	<i>QCH.perg-1A</i>	B19xB2002	E4	<i>RAC875_c53185_802</i>	148,4	480,5	5,21	-0,037	21
			E1	<i>BS00023126_51</i>	157,4	480,6	5,15	-0,036	22
CH	<i>QCH.perg-2B</i>	BP11xB2002	E1	<i>wsnp_Ra_c4126_7552133</i>	84,0	409,3	5,98	-0,035	25
			E3	<i>Kukri_rep_c91092_553</i>	84,8	442,3	3,83	-0,048	14
		B19xB2002	E3	<i>wsnp_Ex_rep_c104478_89183627</i>	57,1	447,8	2,82	-0,035	10

NG	QGN.perg-5A	B19xB2002	E2	<i>BS00083507_51</i>	42,2	461,5	4,56	1,8	15
			E5	<i>BS00083507_51</i>	42,2	461,5	3,89	2,3	15
			B	<i>Ex_c19057_965</i>	44,7	473,6	5,00	1,8	18
PG	QGW.perg-5A	BP11xB2002	E3	<i>Tdurum_contig67291_367</i>	78,1	573,8	5,59	3,0	20
			B	<i>Tdurum_contig67291_367</i>	78,1	573,8	3,12	1,2	8
	QGW.perg-6B	B19xB2002	E3	<i>BS00032146_51</i>	79,8	615,2	3,36	1,5	13
			E4	<i>Kukri_rep_c117390_70</i>	43,4	127,6	7,13	-1,7	22
			E2	<i>Kukri_c38398_164</i>	45,5	135,1	5,15	-1,6	14
			B	<i>Kukri_c38398_164</i>	45,5	135,1	5,73	-1,8	18

^aCarácter, LE: longitud de espiga (mm), NET: número de espiguillas totales (n° espiga⁻¹), CN: compactación de espiga (mm espiguilla⁻¹), FF: flores fértiles por espiga (n° espiga⁻¹), NEF: número de espiguillas fértiles por espiga (n° espiga⁻¹), FFET: flores fértiles por espiguillas totales (n° espiguilla⁻¹), FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil (n° espiguilla⁻¹), R: raquis (g espiga⁻¹), GLPA: gluma+lema+palea+arista (g espiga⁻¹), CH: chaff (peso seco de espiga en madurez sin granos, g espiga⁻¹), NG: número de granos (n° espiga⁻¹), PG: peso de granos (mg).

^bPoblación, BP11xB2002: población Baguette Premium 11 x BioINTA 2002; B19xB2002: población Baguette 19 x BioINTA 2002.

^cAmbientes, E1: Pergamino 2012, E2: Pergamino 2013, E3: Pergamino 2015, E4: Marcos Juárez 2015, E5: Pergamino 2016, B: BLUE.

^bEfecto aditivo: contribución de los alelos de los padres. El valor positivo del efecto aditivo indica que el alelo Baguette aumenta el carácter correspondiente. El valor negativo del efecto aditivo indica que el alelo BioINTA2002 aumenta el carácter correspondiente.

Para el NET se identificaron 24 QTL (Cuadro Suplementario S6), pero sólo tres de ellos, en los cromosomas 2D (*QTS.perg-2D*), 3A (*QTS.perg-3A*) y 7A (*QTS.perg-7A*), se consideraron mayores y estables. *QTS.perg-2D* se detectó en la población BP11xB2002 mientras que *QTS.perg-3A* se detectó en la población B19xB2002 (Cuadro 14). Por otro lado, *QTS.perg-7A* se detectó en dos ambientes en la población BP11xB2002 (E1 y B) y en un ambiente en la población B19xB2002 (E3, Cuadro 14). El alelo creciente para todo los QTL fue siempre aportado por B2002 con un efecto aditivo que varió de 0,8 a 1,0, de 0,7 a 1,0 y de 0,5 a 0,6 espiguillas totales espiga⁻¹ para *QTS.perg-2D*, *QTS.perg-3A* y *QTS.perg-7A*, respectivamente (Cuadro 14).

Para la CN, de los 22 QTL detectados sólo dos, localizados en los cromosomas 2A (*QCN.perg-2A*) y 5A (*QCN.perg-5A*), se consideraron mayores y estables (Cuadro Suplementario S6, Cuadro 14). Ambos QTL se identificaron en ambas poblaciones. *QCN.perg-2A* se detectó en un ambiente en BP11xB2002 (E3) y en tres ambientes en B19xB2002 (E1, E5 y B). Mientras que *QCN.perg-5A* se detectó en dos ambientes en BP11xB2002 (E2 y B) y en un ambiente en B19xB2002 (E3, Cuadro 14). El alelo creciente de ambos QTL fue aportado por B2002 y tuvo un efecto aditivo que varió de 0,13 a 0,20 mm espiguilla⁻¹ (Cuadro 14).

A pesar de que se identificaron 18 QTL para FF (Cuadro Suplementario S6), sólo dos en los cromosomas 2B (*QFF.perg-2B*) y 7B (*QFF.perg-7B*) se consideraron mayores y estables (Cuadro 14). *QFF.perg-2B* se detectó en un ambiente en la población BP11xB2002 (E3) y en tres ambientes en la población B19xB2002 (E2, E3 y B, Cuadro 14), mientras que el *QFF.perg-7B* se detectó en tres ambientes en la población B19xB2002 (Cuadro 14). El alelo creciente de *QFF.perg-2B* fue aportado por B2002 y tuvo un efecto aditivo significativo que varió de 2,7 a 3,8 flores fértiles espiga⁻¹ (Cuadro

14). Por otro lado, el alelo creciente de *QFF.perg-7B* fue aportado por B19 y tuvo un efecto aditivo significativo que varió de 1,7 a 3,6 flores fértiles espiga⁻¹ (Cuadro 14). No se detectó interacción epistática significativa entre *QFF.perg-2B* y *QFF.perg-7B* ($p = 0,3416$).

Tres QTL para NEF en los cromosomas 2B (*QFS.perg-2B*), 3A (*QFS.perg-3A*) y 5B (*QFS.perg-5B*) se consideraron mayores y estables, de los 23 QTL identificados en el análisis de QTL (Cuadro Suplementario S6). *QFS.perg-2B* se detectó en un ambiente en la población BP11xB2002 (E3) y en tres ambientes en la población B19xB2002 (E2, E3 y B, Cuadro 14). *QFS.perg-3A* se detectó en tres ambientes en la población B19xB2002 (E1, E2 y E3, Cuadro 14). Finalmente, *QFS.perg-5B* fue detectado en dos ambientes en la población BP11xB2002 (E2 y B) y en un ambiente en la población B19xB2002 (E2, Cuadro 14). El alelo creciente siempre fue provisto por B2002 con un efecto aditivo que varió de 0,4 a 0,9 espiguillas fértiles espiga⁻¹ (Cuadro 14). No se detectó interacción epistática significativa entre *QFS.perg-2B* y *QFS.perg-3A* ($p = 0,2133$).

De los 21 QTL identificados para FFET (Cuadro Suplementario S6), dos QTL en los cromosomas 5A (*QFFTS.perg-5A*) y 5B (*QFFTS.perg-5B*) se consideraron mayores y estables. *QFFTS.perg-5A* se detectó en un ambiente en la población BP11xB2002 (E3) y en tres ambientes en la población B19xB2002 (E1, E3 y B) mientras que *QFFTS.perg-5B* se detectó en cuatro ambientes en la población BP11xB2002 (E1, E2, E3 y B, Cuadro 14). Para ambos QTL, el alelo creciente fue aportado por los padres Baguette con un efecto aditivo que varió de 0,09 a 0,13 y de 0,9 a 0,16 flores fértiles espiguilla total⁻¹ para *QFFTS.perg-5A* y *QFFTS.perg-5B*, respectivamente (Cuadro 14).

Sólo un QTL para FFEF en el cromosoma 7B (*QFFFS.perg-7B*) fue mayor y estable, de los 22 QTL identificados (Cuadro Suplementario S6). Se detectó en la

población B19xB2002, en dos ambientes (E1 y E3) y en el BLUE (Cuadro 14). El alelo creciente fue aportado por B19 con un efecto aditivo que varió de 0,09 a 0,15 flores fértiles espiguilla fértil⁻¹ (Cuadro 14).

Tres de los 31 QTL identificados para R en los cromosomas 2A (*QR.perg-2A*), 3B (*QR.perg-3B*) y 6A (*QR.perg-6A*) fueron mayores y estables (Cuadro Suplementario S6). *QR.perg-3B* sólo se detectó en la población BP11xB2002 mientras que *QR.perg-2A* y *QR.perg-6A* se identificaron en ambas poblaciones. *QR.perg-2A* estuvo presente en dos ambientes en la población BP11xB2002 (E1 y B) y en un ambiente en la población B19xB2002 (E5), mientras que el *QR.perg-6A* se detectó en dos ambientes para cada población HD (Cuadro 14). Los padres Baguette contribuyeron el alelo creciente de *QR.perg-2A* y *QR.perg-3B* con un efecto aditivo que varió de 0,004 a 0,008 y de 0,004 a 0,010 g espiga⁻¹, respectivamente. En contraste, el alelo creciente de *QR.perg-6A* fue provisto por B2002 con un efecto aditivo que varió de 0,003 a 0,008 g espiga⁻¹ (Cuadro 14).

A pesar de que se detectaron 23 QTL para GLPA (Cuadro Suplementario S6), sólo cuatro de ellos, en los cromosomas 1A (*QGLPA.perg-1A*), 3A (*QGLPA.perg-3A*), 5B (*QGPLA.perg-5B*) y 7A (*QGLPA.perg-7A*) fueron mayores y estables. Los QTL *QGLPA.perg-1A* y *QGLPA.perg-3A* se identificaron en la población BP19xB2002, mientras que *QGPLA.perg-5B* y *QGLPA.perg-7A* se detectaron en ambas poblaciones. Los QTL *QGPLA.perg-5B* y *QGLPA.perg-7A* se encontraron presentes en dos ambientes en la población BP11xB2002 y en un ambiente en la población B19xB2002 (Cuadro 14). El alelo creciente para *QGLPA.perg-1A*, *QGLPA.perg-3A* y *QGLPA.perg-7A* fue aportado por B2002, con un efecto aditivo que varió de 0,027 a 0,033, de 0,011 a 0,024 y de 0,013 a 0,033 g espiga⁻¹, respectivamente (Cuadro 14). Por otro lado, el alelo

creciente para *QGLPA.perg-5B* fue aportado por los padres Baguette con un efecto aditivo que varió de 0,018 a 0,041 g espiga⁻¹ (Cuadro 14). Se detectó interacción epistática significativa entre *QGLPA.perg-1A* y *QGLPA.perg-3A* ($p = 0,021$). Cuando se encontró presente el alelo de B19 en *QGLPA.perg-1A*, se redujo notablemente el peso de GLPA ante presencia de cualquiera de los alelos (B19 y B2002) para *QGLPA.perg-3A*, pero el efecto fue mayor en presencia del alelo B19 (Figura 13).

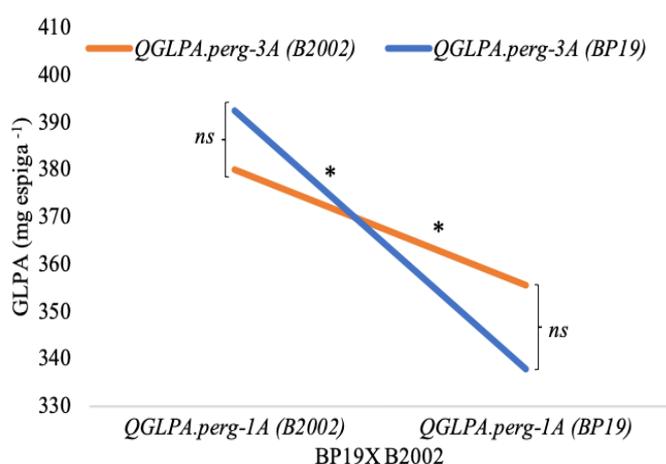


Figura 13. Gráficos de interacción bidireccional para GLPA entre *QGLPA.perg-1A* y *QGLPA.perg-7A*. Un asterisco indica un efecto simple significativo ($p < 0,05$) de cada gen en presencia de cada alelo del otro gen, mediante la prueba de Fisher.

Aunque se identificaron 25 QTL para CH, sólo dos de ellos, en los cromosomas 1A (*QCH.perg-1A*) y 2B (*QCH.perg-2B*) fueron mayores y estables (Cuadro Suplementario S6). El *QCH.perg-1A* se detectó en la población B19xB2002 mientras que *QCH.perg-2B* estuvo presente en dos ambientes en la población BP11xB2002 (E1 y E3) y en uno en la población B19xB2002 (E3, Cuadro 14). En ambos casos, el alelo creciente fue provisto por B2002, con un efecto aditivo que varió de 0,029 a 0,037 g espiga⁻¹ para *QCH.perg-1A* y de 0,035 a 0,048 g espiga⁻¹ para *QCH.perg-2B* (Cuadro 14).

Para NG, sólo un QTL en el cromosoma 5A (*QGN.perg-5A*) fue mayor y estable, de los 18 QTL identificados (Cuadro Suplementario S6). El QTL se detectó en la población B19xB2002, en dos ambientes (E2 y E5) y en el BLUE (Cuadro 14). El alelo creciente fue provisto por B19 con un efecto aditivo que varió de 1,8 a 2,3 granos espiga⁻¹ (Cuadro 14).

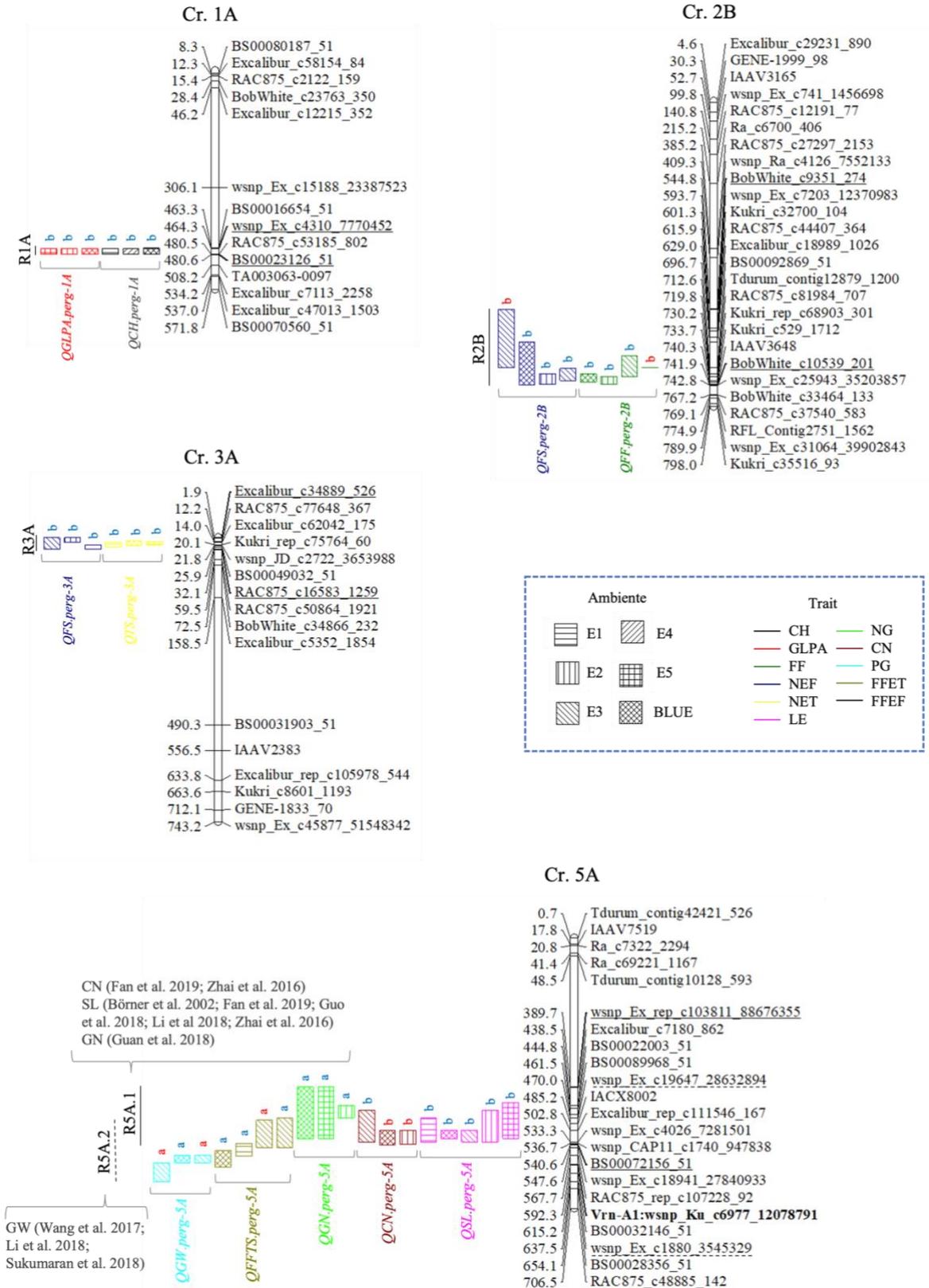
De los 21 QTL detectados en el análisis de PG sólo dos, en los cromosomas 5A (*QGW.perg-5A*) y 6B (*QGW.perg-6B*) fueron mayores y estables (Cuadro Suplementario S6). *QGW.perg-6B* estuvo presente en la población B19XB2002 mientras que *QGW.perg-5A* se detectó en dos ambientes en la población BP11xB2002 (E3 y B) y en un ambiente en la población B19xB2002 (Cuadro 14). Para *QGW.perg-5A*, el alelo de los padres de Baguette contribuyó significativamente con un efecto aditivo que varió entre 1,2 y 3,0 mg (Cuadro 14). Por el contrario, para *QGW.perg-6B*, el alelo creciente fue provisto por B2002, variando el efecto aditivo de 1,6 a 1,8 mg (Cuadro 14).

No se detectó ningún QTL mayor y estable para PSE y GST a pesar de los 24 y 14 QTL identificados respectivamente en el análisis (Cuadro Suplementario S6).

4.3.2. Regiones de QTL estables y mayores para fertilidad de espiga y caracteres relacionados

Se identificaron ocho regiones genómicas, distribuidas en siete cromosomas (R1A, R2B, R3A, R5A.1, R5A.2, R5B, R7A y R7B), que contienen 17 de los 28 QTL estables y mayores detectados para los diferentes caracteres (Figura 14, Cuadro Suplementario S7 y S8). Los QTL ubicados en estas regiones compartieron un intervalo de confianza de ± 50 Mb desde el marcador SNP con el valor de LOD más alto según su

posición física, lo que indica un potencial efecto pleiotrópico sobre los rasgos correspondientes (Figura 14). Los alelos crecientes para R1A, R2B, R3A y R7A siempre fueron aportados por el padre B2002. El QTL pico de la región R1A se ubicó entre 464,3-480,6 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QCH.perg-1A* y *QGLPA.perg-1A*. El QTL pico de la región R2B se ubicó entre 544,8-741,9 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QFF.perg-2B* y *QFS.perg-2B*. El QTL pico de la región R3A se ubicó entre 1,9-32,1 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QTS.perg-3A* y *QFS.perg-3A*. El QTL pico de la región R7A se ubicó entre 36,9-120,2 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QSL.perg-7A* y *QGLPA.perg-7A* (Figura 14). Por otro lado, los padres Baguette contribuyeron con los alelos crecientes para las regiones R5A.2 y R7B. El QTL pico de la región R5A.2 estuvo ubicado entre 470,0-637,5 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QFFTS.perg-5A* y *QGW.perg-5A* y el QTL pico de la región R7B se ubicó entre 605,4-709,3 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QFF.perg-7B* y *QFFFS.perg-7B* (Figura 14). El alelo creciente de cada QTL, localizado en la región R5A.1, fue contribuido por diferente padre dependiendo del carácter (Figura 14). El QTL pico de la región R5A.1 se ubicó entre 389,7-540,6 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QSL.perg-5A*, *QCN.perg-5A* y *QGN.perg-5A*. El alelo creciente para los QTL *QSL.perg-5A* y *QCN.perg-5A* fue provisto por el padre B2002, mientras que el alelo creciente de *QGN.perg-5A* fue provisto por el padre B19. Finalmente, el QTL pico de la región R5B se ubicó entre 562,0-671,3 Mb (± 1 LOD) y contuvo los QTL *QFS.perg-5B* y *QGLPA.perg-5B*. En ambos casos, el alelo creciente fue aportado por el padre B2002.



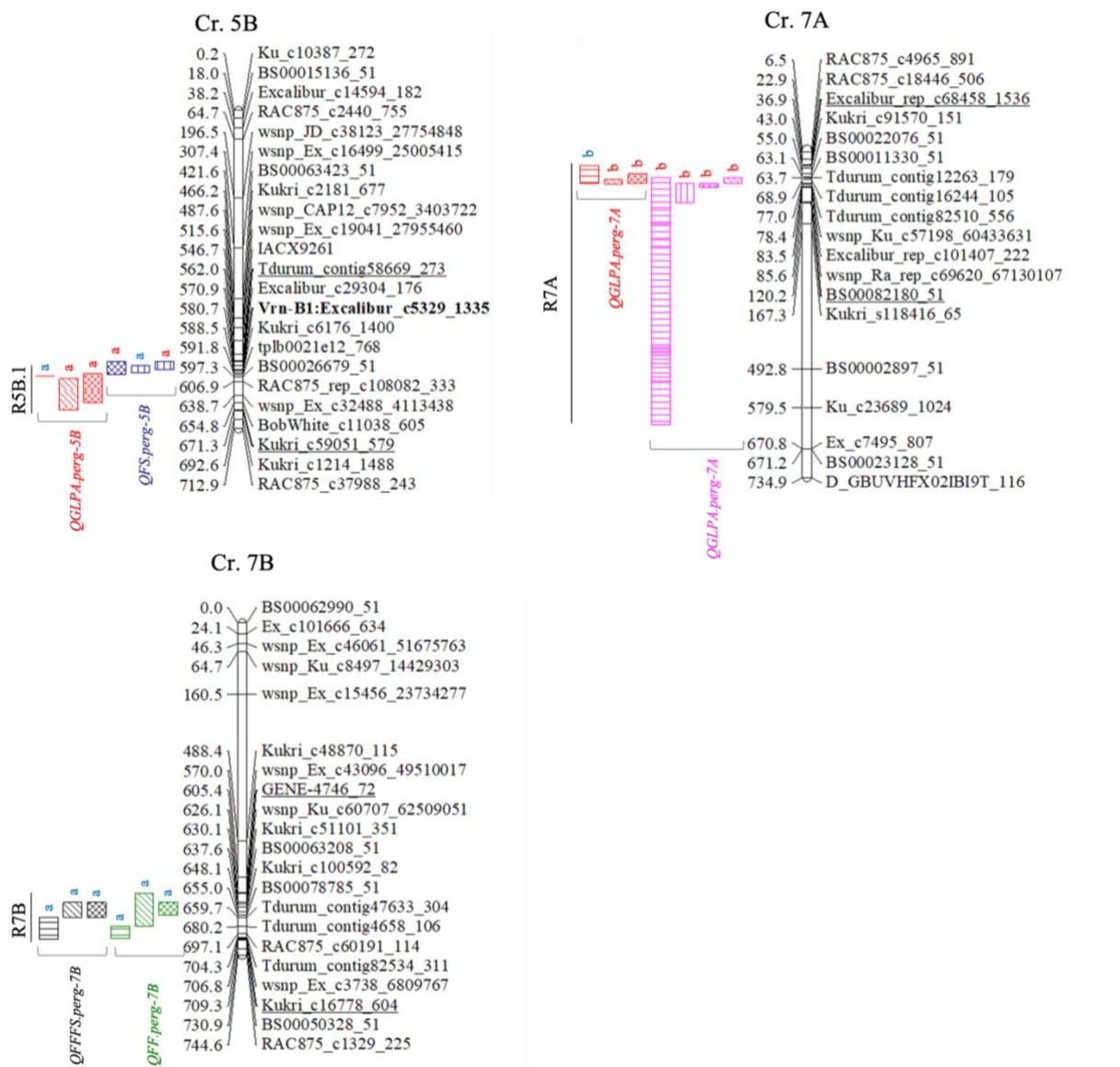


Figura 14. Regiones genómicas representadas en cromosomas con los marcadores y su posición de referencia.

*Las distancias físicas correspondientes (Mb) de las regiones QTL se obtuvieron con los marcadores SNP flanqueantes (± 1 LOD) del QTL mayor y estable más distante de cada extremo en base a la ubicación de mapa de referencia Chinese Spring RefSeq v1.0.

**La "a" indica que el alelo BP11 o B19 aumenta el carácter correspondiente y la "b" indica que esto lo hace el alelo B2002. Las letras rojas son para la población BP11xB2002 y las letras azules son para la población B19xB2002.

*** Las líneas continuas y de puntos indican los marcadores para cada *hot-spot*.

****En NG BLUE, el - 1 LOD SNP (Tabla S9) estaba ubicado en un espacio de mapa sin marcadores, el más cercano se encuentra a 341,3 cM de distancia, por lo que se descartó este ambiente para determinar el intervalo del R5A.1.

4.4. Discusión

La mayor parte del progreso en el mejoramiento del rendimiento potencial del trigo se ha logrado mediante la selección del rendimiento *per se*, debido a la falta de caracteres secundarios fiables e información molecular disponible para ser utilizada en la selección asistida por marcadores (MAS) (Snape y Moore 2007). La mejora del rendimiento potencial fue, en la mayoría de los casos, consecuencia del aumento del NG (Waddington et al. 1986; Perry y D'Antuono 1989; Siddique et al. 1989a; Slafer y Andrade 1989; Slafer y Andrade 1993; Acreche et al. 2008; Del Pozo et al. 2014; Lo Valvo et al. 2018), aunque recientemente se han reportado efectos del PG (Sadras y Lawson 2011; Aisawi et al. 2015; Yao et al. 2019). En el presente trabajo identificamos un QTL mayor y estable para NG en el cromosoma 5A (*QGN.perg-5A*) en la misma posición que la informada por Guan et al. (2018). Sin embargo, en el Capítulo anterior reportamos que esta posición controla principalmente el coeficiente de fertilidad de espiga en antesis (CFEa, flores fértiles $gPSE^{-1}$) cuando identificamos y validamos el *QFFE.perg-5A* (Pretini et al. 2020b). Entonces, como el NG es el resultado del CFEa y GST junto con el PSE (Fischer, 1984, 2011), el *QFFE.perg-5A* se pudo detectar como un QTL asociado a NG, destacando la relevancia del CFEa y el QTL que validamos para definir el NG. Este resultado ejemplifica la importancia de diseccionar los rasgos en componentes más simples y heredables porque permite una mejor búsqueda futura de un gen candidato.

En relación con el PG, detectamos dos QTL, uno en el cromosoma 5A y otro en el cromosoma 6B (Cuadro 13). El primero ya había sido reportado (Wang et al. 2017; Li et al. 2018; Sukumaran et al. 2018), pero el segundo, *QGW.perg-6B* es novedoso. Este QTL se encuentra a 157,7 Mb del gen homeólogo de *GW2* en el genoma B (*GW2-B1*),

asociado al tamaño de grano (Su et al. 2011), lo que sugiere que no sería un gen candidato para explicar las variaciones fenotípicas observadas.

El NG es un carácter complejo ya que es el resultado de muchos caracteres numéricos y fisiológicos relacionados con la fertilidad de espiga. En el presente estudio se detectaron 25 QTL mayores y estables para fertilidad de espiga y caracteres relacionados (sin considerar el de NG y los dos de PG ya mencionados en el párrafo anterior). Sólo hubo dos caracteres, PSE y GST, para los cuales no se detectaron QTL estables y mayores, esto concuerda con su baja heredabilidad observada en sentido estricto (ver Cuadro 3 en Capítulo II) y destaca el alto impacto del ambiente en esos caracteres. Considerando los tres QTL detectados para LE, *QSL.perg-2B* se encuentra localizado a 13,4 Mb del ya descrito por Cui et al. (2012) (Cuadro Suplementario S4), y *QSL.perg-5A* se ubica en la misma región que un QTL reportado previamente (Li et al. 2018; Börner et al. 2002; Guo et al. 2018; Fan et al. 2019; Zhai et al. 2016) (Cuadro 13). Por el contrario, no se han detectado regiones equivalentes en estudios previos para *QSL.perg-7A*. Con respecto a los tres QTL identificados para NET, *QTS.perg-2D* se superpone parcialmente con uno informado previamente por Zhou et al. (2017) (Cuadro Suplementario S4). Mientras tanto, *QTS.perg-7A* está en la misma región que un QTL identificado previamente (Cui et al. 2012; Ding et al. 2011; Fan et al. 2019; Jantasuriyarat et al. 2004; Ma et al. 2018; Xu et al. 2014; Zhai et al. 2016) (Cuadro 13), y co-localiza con el gen *WAP0-A1* (674,1 Mb) descrito recientemente, el cual modifica el número total de espiguillas por espiga (Kuzay et al. 2019). Finalmente *QTS.perg-3A*, detectado en nuestro trabajo, no ha sido descrito previamente. En relación con CN, *QCN.perg-5A* está en la misma región que un QTL detectado previamente (Zhai et al. 2016; Fan et al. 2019), pero *QCN.perg-2A* es nuevo.

Los dos QTL detectados para FF son novedosos. *QFF.perg-2B* está ubicado aproximadamente a 539 Mb del QTL para FF detectado por Guo et al. (2017), descartando que sea la misma región, mientras que para *QFF.perg-7B*, no se han reportado regiones equivalentes previamente. Para el NEF, sólo se detectó *QFS.perg-2B* distanciado a 540 Mb de otro QTL detectado previamente (Deng et al. 2017; Ma et al. 2018) (Cuadro 13). Los dos QTL restantes, *QFS.perg-3A* y *QFS.perg-5B*, no comparten regiones con trabajos anteriores.

Para el resto de los caracteres analizados en este estudio (FFET, FFEF, R, GLPA y CH), no hay reportes previos disponibles según nuestro conocimiento (Cuadro Suplementario S4). Por lo tanto, consideramos los QTL para FFET (*QFFTS.perg-5A* y *QFFTS.perg-5B*), FFEF (*QFFFS.perg-7B*), R (*QR.perg-2A*, *QR.perg-3B* y *QR.perg-6A*), GLPA (*QGLPA.perg-1A*, *QGLPA.perg-3A*, *QGLPA.perg-5B* y *QGLPA.perg-7A*) y CH (*QCH.perg-1A* y *QCH.perg-2B*) como nuevos. No se detectaron QTL en el cromosoma 2A para FFET o FFEF, en el cual se identificó el gen *GNI-A1* (Sakuma et al. 2019), conocido por aumentar el número de granos a través de un mayor número de flores fértiles espiguilla⁻¹.

Como muchos de los caracteres de fertilidad de espiga detectados en este estudio tenían posiciones similares, identificamos ocho regiones genómicas que comparten 17 QTL principales y estables para diferentes caracteres (R1A, R2B, R3A, R5A.1, R5A.2, R5B, R7A y R7B). Sólo en dos de estas regiones (R5A.1 y R5A.2) se han descrito previamente otros QTL para el mismo carácter. Las seis regiones restantes se identificaron por primera vez como puntos calientes importantes (*hot-spots*) para los caracteres relacionados con fertilidad de espiga (Figura 14). Curiosamente, la región R5A.1, que contiene QTL para LE, CN y NG, está cerca del *QFFE.perg-5A* identificado

y validado para el coeficiente de fertilidad de espiga en antesis en el Capítulo anterior (Pretini et al. 2020b). El alelo del padre B2002 aumenta la LE y CN mientras que el alelo del padre B19 aumenta el NG a través del *QFFE.perg-5A*. Estos resultados concuerdan con el desempeño de las líneas parentales descritas en el Capítulo II (Cuadro 7).

La región R5A.2, que incluye *QFFTS.perg-5A* y *QGW.perg-5A*, coincide con la ubicación del gen de respuesta a vernalización *Vrn-A1*; mientras que la región R5B, que incluye *QFS.perg-5B* y *QGLPA.perg-5B*, coincide con la ubicación del otro gen de respuesta a vernalización *Vrn-B1*. Las tres líneas parentales de las dos poblaciones HD utilizadas en el presente estudio son trigos primaverales (*Vrn-A1b / vrn-B1 / vrn-D1* para B19 y BP11 y *vrn-A1 / Vrn-B1 / vrn-D1* para B2002); y mayormente insensibles al fotoperíodo (alelo *Ppd-D1a*). Esto concuerda con las fechas de antesis muy cercanas de las líneas dentro de cada población descritas en el Capítulo II (Pretini et al. 2020b), excepto para la siembra de verano (E5) de la población B19xB2002, en la que el rango fue mayor (Cuadro 1, Capítulo II). Para probar el efecto de los dos genes, se realizó un ANOVA usando los marcadores funcionales para *Vrn-A1* y *Vrn-B1* como fuente de variación para el tiempo hasta la antesis y se detectaron pequeñas diferencias entre las fechas de antesis para ambas poblaciones. En BP11xB2002, sólo una diferencia de cinco a siete días en el tiempo hasta la antesis se asoció con la constitución alélica de *Vrn-A1* o *Vrn-B1*, respectivamente (Cuadro Suplementario S9). De manera similar, para B19xB2002, se detectó una diferencia de tres días en la fecha de antesis dependiendo de la constitución alélica de ambos genes (Cuadro Suplementario S9). No se observó interacción epistática entre *Vrn-A1* y *Vrn-B1* en BP11xB2002, mientras que sí se observó una diferencia de hasta 7 días en la antesis, dependiendo de la constitución alélica de la población B19xB2002. Basado no sólo en esos resultados, sino también en el hecho de

que la mayoría de los QTL incluidos en las regiones R5A.2 y R5B no se expresaron en la siembra de verano del ambiente E5 (excepto para *QGLPA.perg-5B* en B19xB2002), no se considera que estos QTL sean consecuencia de un efecto fenológico importante. Por el contrario, podría estar indicando que la variación alélica de *Vrn-A1* y *Vrn-B1* en la población podría tener un efecto pleiotrópico sobre los caracteres de espiga ubicados en esas regiones, con poco impacto en la fenología en las condiciones bajo las cuales se realizaron los ensayos.

Como vimos en el Capítulo III, el coeficiente de fertilidad de espiga y los caracteres asociados se encuentran correlacionados, positiva o negativamente, dependiendo del carácter (Figura 5, Figura 6) (Hay y Kirby 1991). Además, generalmente se observa una correlación negativa entre NG y PG (Slafer y Andrade 1989; Sadras y Lawson 2011; Griffiths et al. 2015), que también está presente en nuestro conjunto de datos. Por ello, exploramos los posibles efectos pleiotrópicos de cada una de las ocho regiones detectadas sobre los otros caracteres relacionados con la fertilidad de espiga, el PG y el rendimiento final por espiga (RTO), siguiendo la Figura 15. Para ello, realizamos un ANOVA para cada uno de los caracteres evaluados, utilizando en el modelo el marcador pico de los QTL como efecto fijo y los ambientes como variables de clase aleatorias. Cuatro regiones tuvieron un efecto significativo en NG (R2B, R3A, R5A.1 y R5A.2), seis en PG (R1A, R2B, R5A.1, R5A.2, R7A.1, R7A.2 y R7B) (resultados no mostrados), pero sólo dos en RTO (R5A.1, R5A.2). Para la región R5A.1 (*QSL.perg-5A*, *QCN.perg-5A* y *QGN.perg-5A*) cuando el alelo de B19 está presente, resulta en una espiga más corta (-6% LE) con bajo impacto en el NET (-2%), debido a una reducción en la distancia entre espiguillas (-5% CN), y similar NEF (ns). El FF aumenta un 4% debido a un mayor CFEa (+10%), a pesar de una reducción en el PSE (-3%), acompañado de un

incremento del 3% del FFEF. El mayor FF junto con un GST más alto (+8%) da como resultado un incremento en el NG (+7%), lo que se traduce en un mayor rendimiento (+3%) a pesar de una reducción significativa en el PG (Figura 15). Como mencionamos anteriormente, esta región incluye el *QFFE.perg-5A* identificado y validado para coeficiente de fertilidad de espiga en antesis en el Capítulo anterior (Pretini et al. 2020b), también dentro de la población B19xB2002, el cual mostró efectos pleiotrópicos similares a los de la región R5A.1. La otra región que resultó en un incremento del RTO fue la R5A.2, que contenía *QGW.perg-5A* y *QFFTS.perg-5A*. Cuando el alelo de B19 está presente, la LE no se ve afectada, pero la distancia entre espiguillas aumenta (+3% CN), reduciendo el NET (-2%), sin modificar el FFET. En cambio, el FFEF y CFEa aumentan un 3 y 6%, respectivamente. Sin embargo, no se ve una mejora significativa en FF, ni en GST ni en NG. La mejora de RTO de R5A.2 (+5%), cuando está presente el alelo B19, es consecuencia del aumento del PG (+6%) (Figura 15). Hasta donde sabemos, el efecto pleiotrópico de estas regiones no se había informado previamente. Realizamos un análisis similar del efecto pleiotrópico para cada QTL identificado (datos no mostrados), siendo el *QGW.perg-6B* el único que tiene un efecto pleiotrópico en el RTO. Cuando estuvo presente el alelo de B2002, las espigas fueron más largas (+2% LE), pero el NET y la CN no se modificaron significativamente (Figura 15). Sin embargo, se detectó un mayor NEF (+2%), que fue contrarrestado por una reducción en el FFEF (-2%) resultando en un impacto nulo en FF y NG. El incremento del RTO (+5%) fue consecuencia del aumento de PG (+10%). Este es un resultado interesante que destaca por primera vez la relevancia de este QTL.

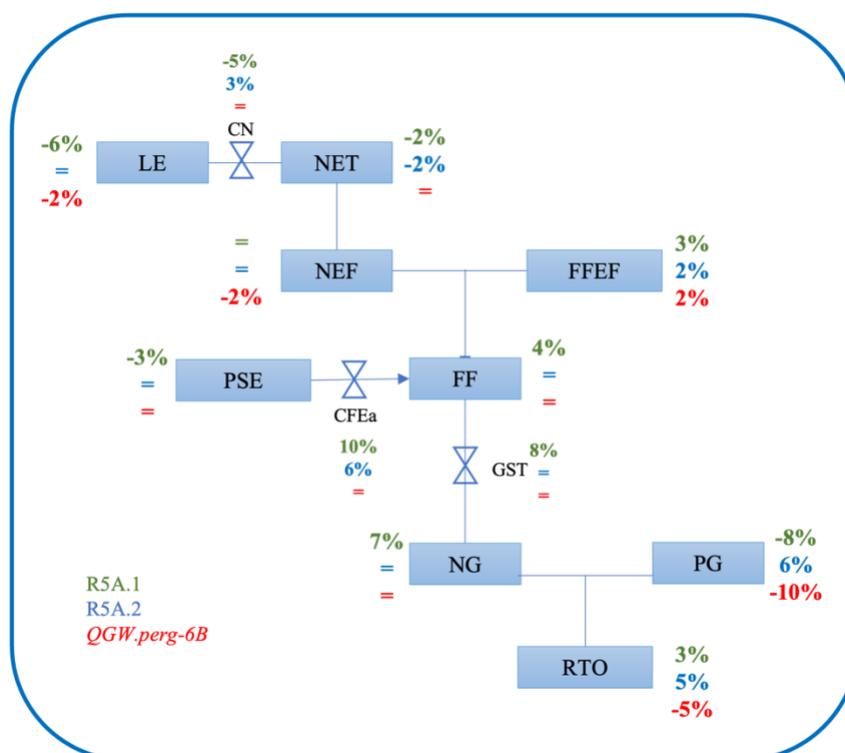


Figura 15. Marco conceptual fisiológico de las variables medidas que muestra los efectos principales y pleiotrópicos de las regiones R5A.1 y R5A.2 y *QGW.perg-6B*.

Los símbolos =, ↑, ↓, indican un efecto no significativo. El porcentaje verde representa el efecto de R5A.1 mientras que el porcentaje azul representa el efecto de R5A.2 y el porcentaje rojo representa el efecto de *QGW.perg-6B*. LE: longitud de la espiga, NET: número de espiguillas totales por espiga, CN: compactación de la espiga, FF: flores fértiles por espiga, NEF: número de espiguillas fértiles por espiga, FFEF: flores fértiles por espiguilla fértil, PSE: peso seco de la espiga en antesis, CFEa: coeficiente de fertilidad de espiga en antesis, NG: número de granos por espiga, PG: peso de grano, GST: cuaje de granos, RTO: rendimiento.

4.5. Conclusiones

Se lograron detectar 305 QTL para diferentes caracteres, distribuidos en todo el genoma del trigo. Sin embargo, sólo 28 se consideraron mayores y estables. De los 14 caracteres analizados, sólo dos no mostraron un QTL mayor y estable (PSE y GST). Para el resto de los 12 caracteres, se detectaron hasta 28 QTL y 8 regiones significativas y estables. En base al complejo análisis pleiotrópico realizado se concluye que las regiones R5A.1 y el R5A.2 junto con *QGW.perg-6B* son de gran relevancia para ser utilizadas en

MAS para mejorar un conjunto de rasgos relacionados con el potencial de rendimiento de la espiga. Todos los QTL identificados para los caracteres relacionados con la fertilidad de espiga son el primer paso para la búsqueda de sus genes candidatos, lo que permitirá su mejor manipulación en el futuro.

En base a estas conclusiones podemos decir que la hipótesis (vi) “*Existen regiones genómicas o QTL para los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, el peso de espiga en antesis y el peso de grano*”, se rechaza parcialmente porque no se encontraron QTL para PSE y CH, aunque sí para el resto de los 14 caracteres estudiados. Sólo para algunos de dichos caracteres (LE y GLPA) se encontraron interacciones epistáticas, rechazando parcialmente también la hipótesis (vii) “*Existen interacciones epistáticas entre los QTL detectados para componentes estructurales y numéricos de la fertilidad, peso de espiga en antesis y peso de grano*”.

CAPÍTULO V: Discusión general

Actualmente, las tasas de ganancia de rendimiento (real - obtenido por el productor y potencial- a través del mejoramiento genético de cultivares), se encuentran por debajo de los valores proyectados como necesarios para incrementar la producción de trigo y satisfacer la demanda futura, sin adicionar nuevas áreas de cultivo (Fischer y Edmeades 2010; Lo Valvo et al. 2018, Ray et al. 2013, Curin et al. 2021). Comprender las bases fisiológicas y genéticas de las características secundarias asociadas funcionalmente al rendimiento potencial permitiría realizar una selección indirecta asistida por marcadores moleculares, permitiendo la selección en etapas tempranas del mejoramiento e incrementando la tasa de ganancia genética (Slafer 2003; Reynolds et al. 2009; Fischer 2011; Foulkes et al. 2011; Fischer y Rebeztke 2018).

El número de granos m^{-2} es aún el componente de mayor relevancia en la determinación del rendimiento del cultivo en la Región dado que no se ha reportado una gran limitación por fotoasimilados durante el período de llenado de granos (Borras et al. 2004; Acreche y Slafer 2006; González et al. 2014; Lo Valvo et al. 2018; Curin et al. 2021). En este trabajo utilizamos como marco de análisis el modelo ecofisiológico propuesto por Fischer (1984, 2011) para analizar la determinación del número de granos. De acuerdo con lo discutido en el Capítulo I, este modelo establece las relaciones entre el $NG\ m^{-2}$, el coeficiente de fertilidad de la espiga ($CFE\ m^{-2}$) y el peso seco de las espigas en antesis ($PSE\ m^{-2}$). Considerando que (i) estudios previos habían mostrado la factibilidad de medir el coeficiente de fertilidad a nivel de espiga individual (Abbate et al. 2013; Martino et al. 2015; Terrile et al. 2017), y la existencia de una buena correlación entre éste y aquel estimado a nivel de parcela (Quail et al. 1989), (ii) que las líneas parentales de las poblaciones HD a utilizar en este trabajo habían sido especialmente elegidas por diferir en coeficiente de fertilidad, pero eran similares en otras características

que influyen en el rendimiento (ciclo a antesis, altura, PSE m^{-2} y número de espigas m^{-2}), expandimos el modelo de Fischer a nivel de espiga (ver Figura 2 en Capítulo I). En el Capítulo II, se pudo constatar efectivamente que tanto el CFE m^{-2} como el CFEm m^{-2} se correlacionaron positiva y significativamente con sus pares a nivel de espiga individual en las poblaciones utilizadas. A partir de allí, exploramos un nivel de detalle superior, que no suele ser utilizado dada su complejidad, donde se tuvieron en cuenta el número de flores fértiles (FF) y el cuaje de grano (GST) y definiéndose la relación entre FF/PSE como el coeficiente de fertilidad en antesis (CFEa). Finalmente, se completó el modelo con los componentes numéricos (número de espiguillas, fertilidad de espiguillas) y estructurales (longitud de espiga, compactación, peso de raquis, gluma+lema+palea+arista) de la espiga y cuantificamos por primera vez la relación entre la fertilidad de la espigas y dichos componentes. También exploramos el estudio del CFEm, frecuentemente utilizado dado la complejidad de fenotipar el CFE y el CFEa (Figura 2, Capítulo I).

Al inicio de la Tesis había trabajos previos que determinaron la existencia de variabilidad genética para el CFE y CFEm en germoplasma moderno (ver Slafer et al. 2015 y citas presentadas en el Capítulo I). También se conocía que la heredabilidad tanto del CFEm (Mirabella et al. 2016; Alonso et al. 2018) como de los CFE y CFEa (Pretini et al. 2020a) era moderada a alta. Sin embargo, no había reportes que hubieran abordado el estudio de la relación entre el coeficiente de fertilidad y los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga tanto en antesis como en madurez, ni la heredabilidad en sentido estricto de estos últimos. Desde el punto de vista de las bases genéticas, tampoco se conocía ninguna asociada a CFE, CFEa o CFEm. Menos aún se conocían los posibles efectos epistáticos y pleiotrópicos de las mismas sobre los

componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga. En este trabajo abordamos estos aspectos generando nuevos conocimientos teóricos, y también obteniendo por primera vez marcadores moleculares KASP para QTL validados (*QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*) que pueden utilizarse en MAS para mejorar el coeficiente de fertilidad de la espiga.

5.1. Integración de los resultados a través de los capítulos

De acuerdo con lo esperado, las dos poblaciones HD utilizadas mostraron gran variación en el NG m⁻² generado, el cual correlacionó positivamente con el NG (a nivel de espiga). En forma similar el CFE m⁻² se correlacionó positivamente con el CFE (a nivel de espiga), coincidiendo con Abbate et al. (2013).

El NG se correlacionó positivamente con el CFE y con el CFEm, de acuerdo con estudios previos (ver Capítulo II, González et al. 2011a; Pretini et al. 2020a), pero esta última correlación fue menor que la primera. Ello indica que las posibles ganancias de número de granos y rendimiento a obtener a través de la selección fenotípica de CFEm, si bien positivas (ver Alonso et al. 2018), serían menores a las esperadas si se pudiera seleccionar el CFE. En línea con este supuesto, el efecto pleiotrópico de *QFFE.perg-5A* (asociado primariamente a CFEa y luego a CFE y CFEm) sobre el NG y RTO fue mayor que el del *QFEm.perg-3A* (asociado sólo a CFEm) en las poblaciones HD estudiadas (Capítulo III).

Como se mencionó en el Capítulo I, para que la mejora del CFE y/o CFEa resulte no sólo en mayor NG sino también en mayor RTO, no debieran observarse grandes compensaciones con el PSE y el PG. En el Capítulo II (Figuras 5 y 6), para ambas

poblaciones se observaron correlaciones negativas entre CFE y CFEa vs. PSE, coincidiendo con trabajos previos (Dreccer et al. 2009; Ferrante et al. 2012; Lazaro y Abbate 2013; Terrile et al. 2017; Lo Valvo et al. 2018; Pretini et al. 2020a). Cuando en el Capítulo III se evaluaron los efectos pleiotrópicos de los *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* cuando el alelo de B19 estuvo presente, esto incrementó los coeficientes de fertilidad de espiga y el FF y el NG a pesar de reducir el PSE y el CH. Esta reducción del PSE y el CH al aumentar el coeficiente de fertilidad es en realidad parte de la esencia del incremento en los coeficientes de fertilidad observado en nuestra población HD, y en general en germoplasma local (Abbate et al. 1998; Alonso et al. 2018). En el Capítulo II, pudimos observar que las espigas más cortas y compactas se asociaban a mayores CFEa y CFE y menores PSE y CH (ver Cuadro 7). Luego, en el Capítulo III, al estudiar los efectos pleiotrópicos de los *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* pudimos observar nuevamente que la presencia de los alelos de B19 incrementaron CFEa, CFE y CFEm (*QFFE.perg-5A*) y CFEm (*QFEm.perg-3A*), asociado a menor PSE (el primero) y CH (ambos QTL). El incremento de los coeficientes de fertilidad de espiga sería consecuencia de una mayor partición de fotoasimilados a las flores y granos distales dentro de las espiguillas a expensas de una menor partición de materia seca a los componentes estructurales de la espiga (R, G+L+P+A), acompañada de una reducción en la longitud de la espiga (LE) y de la distancia entre nudos de espiguillas (menor CN) (Figura 10 Capítulo III). Esta mayor partición de asimilados a los órganos reproductivos se sostendría en pos-antesis, explicando el gran impacto positivo de estos QTL sobre el GST (Figura 10, Capítulo III). Recientemente, Ferrante et al. (2020), comparando el desarrollo floral en dos cultivares contrastantes para CFE, también observaron que más flores distales alcanzaban su estado fértil en el cultivar de alto CFE (Soissons) comparado con el de baja fertilidad (Anza). Sin embargo, a diferencia de nuestros resultados, éste fue el

único cambio observado. Sakuma et al. (2019), estudiando el impacto del gen *GNI-A1* también observaron que los incrementos del número de flores fértiles y granos por espiguilla eran las únicas características modificadas por el incremento del CFEm. Pareciera entonces que habría dos ideotipos de espigas que conducen a mayores coeficientes de fertilidad, una donde los asimilados extra para sostener el desarrollo de los órganos reproductivos distales proviene de la propia estructura de la espiga (como lo reportado en este trabajo) y otro donde esta estructura no es modificada y los fotoasimilados extra parecieran provenir de mayores tasas de crecimiento del cultivo en pre-antesis (Ferrante et al. 2020) o reducciones del crecimiento del tallo (Sakuma et al. 2019).

Coincidiendo con Fischer y HilleRisLambers (1978), Ferrante et al. (2012) y Terrile et al. (2017), el PG mostró una relación negativa con el CFE a lo largo de los Capítulos II y III. En forma similar, cuando Alonso et al. (2018) utilizaron el CFEm como criterio de selección fenotípica indirecta, el peso de grano (P1000) se redujo al aumentar el coeficiente de fertilidad. Considerando que el mayor número de FF y NG observado en este trabajo como consecuencia de mayor CFE se encuentra principalmente asociado a mayor número de estructuras reproductivas por espiguilla (Figura 6 y 7, Capítulo II, y Figura 10, Capítulo III), la relación entre PG y CFE no sería constitutiva, sino consecuencia de un mayor número de estructuras reproductivas en posiciones distales que naturalmente poseen menor peso (Calderini et al. 2001; Salfer et al. 2015). Por otro lado, el incremento del RTO asociado a genotipos de alto CFE y/o cuando los QTL validados estuvieron presentes, refuerza esta propuesta.

Teniendo en cuenta la importancia de la estructura de la espiga en la determinación del CFE y sus relaciones negativas con el PSE y el PG en nuestras

poblaciones HD, en el último capítulo de resultados (Capítulo IV) exploramos la búsqueda de QTL específicos para estas características y su relación con los QTL *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* validados previamente. Al buscar QTL para NG, identificamos el *QGN.perg-5A*, reportado previamente por Guan et al. (2018), en la misma posición que el *QFFE.perg-5A*. Este resultado resalta el impacto del *QFFE.perg-5A* sobre el NG. Además, valida el modelo ecofisiológico utilizado poniendo en evidencia la importancia de haber realizado este tipo de análisis para continuar con la búsqueda de genes candidatos a futuro, puesto que conocemos los procesos primarios afectados: el número de flores fértiles por espiguilla y el GST. Excepto para PSE y GST, se encontraron QTL estables y mayores para todas las características, algunos ya reportados previamente y otros nóveles (ver Capítulo IV). Como muchos QTL mapeaban en regiones cercanas, se identificaron regiones calientes que agrupan a gran parte de los QTL identificados. Notablemente, una de dichas regiones (R5A.1) estuvo muy cerca del *QFFE.perg-5A*, y contuvo a la longitud de espiga, compactación y número de granos, reforzando aún más el ideotipo planteado de espiga de alto CFE. También fue una de las pocas regiones con efecto pleiotrópico sobre RTO, realzando la importancia de esta región del genoma.

5.2. Integración de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* a nivel de parcela

Como se mencionó al inicio de esta discusión general, la tesis se enmarca en una línea de investigación con aproximación top-down (ver Figura 7 en Capítulo III), por lo que gran parte de los estudios del coeficiente de fertilidad se enfocaron a nivel de espiga individual. En este apartado, no obstante, se discute el impacto de los dos QTL validados a nivel de parcela. Para la integración a nivel de parcela se realizó un ANOVA con las

características medidas a dicho nivel, considerando los ambientes (dos o tres, dependiendo de la característica) como repeticiones en bloques (Cuadro 15).

En línea con lo observado a nivel de espiga (Pretini et al. 2020b, Capítulo III), el *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* no presentaron interacciones epistáticas significativas (Pretini et al. 2020b). El *QFFE.perg-5A* tampoco presentó interacción con el ambiente en ninguna de las características estudiadas. El NG m^{-2} aumentó 9% cuando el alelo de B19 estuvo presente, debido a un mayor CFE m^{-2} y CFEm m^{-2} (Cuadro 16). El PSE m^{-2} en antesis no se modificó por la presencia de este alelo, de manera contraria a lo observado a nivel de espiga (Pretini et al. 2020b, Figura 10 Capítulo III). El incremento en el número de espigas m^{-2} (5,3%) (Cuadro 16) podría explicar estas diferencias entre parcela y espiga individual. El P1000 no fue modificado por la presencia de este alelo, contrario a lo observado a nivel de espiga individual. Ello resultó en un incremento de 6,8% del rendimiento, siendo éste levemente superior al observado a nivel de espiga individual (Pretini et al. 2020b, Figura 10 Capítulo III). Por su parte, el impacto del *QFEm.perg-3A* proveniente de B19 sobre el NG m^{-2} dependió del ambiente (Cuadro 15), presentado valores similares o levemente mayores en Pergamino (E2 y E3) y claramente superiores en Marcos Juárez (E4) (Cuadro 17). Este comportamiento fue acompañado por el número de espigas m^{-2} y el CFE m^{-2} que presentaron una tendencia similar. Por su parte el CFEm m^{-2} fue claramente superior cuando el alelo de *QFEm.perg-3A* de B19 estuvo presente. En forma similar a lo observado para el *QFFE.perg-5A*, el PSE m^{-2} no fue modificado por la presencia de este alelo. Sin embargo, el P1000 fue menor, resultando en un incremento (5%) no significativo del rendimiento, similar a los resultados a nivel de espiga (Pretini et al. 2020b).

Cuadro 15. Análisis del impacto de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* a nivel de parcela. Valores p resultantes del ANOVA, considerando los ambientes como repeticiones en bloques.

Característica a nivel de parcela							
Fuente variación	RTO m ⁻²	NG m ⁻²	P1000	Espigas m ⁻²	PSE m ^{-2a}	CFE m ^{-2a}	CFEm m ⁻²
Ambiente	0,1356	0,4283	0,4731	<0,0001	0,0001	0,0023	<0,0001
<i>QFFE.perg-5A</i>	0,0190	0,0032	0,1075	0,0263	0,5195	0,0457	<0,0001
<i>QFEm.perg-3A</i>	0,0809	0,0012	0,0028	0,0095	0,4616	0,1799	0,0038
<i>QFFE.perg5A</i> *	0,9599	0,4998	0,1134	0,6399	0,1728	0,9306	0,8216
<i>QFEm.perg-3A</i> Ambiente *	0,6209	0,8690	0,6131	0,4741	0,7427	0,7931	0,5049
<i>QFFE.perg-5A</i> Ambiente *	0,0914	0,0225	0,5074	0,0712	0,2039	0,0625	0,5166
<i>QFEm.perg-3A</i>							

^a Sólo medido en dos ambientes. E2: Pergamino 2013, E3: Pergamino 2015, E4: Marco Juárez 2015. El alelo A es el aportado por B19 mientras que el B por B2002. RTO m⁻²: rendimiento por m⁻², NG m⁻²: número de granos m⁻², P1000: peso de mil granos, Espigas m⁻²: número de espigas m⁻², PSE m⁻²: peso seco de espiga m⁻², CFE m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga estimado a nivel de parcela, CFEm m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga a madurez estimado a nivel de parcela.

Cuadro 16. Valores medios de las variables medidas a nivel de parcela en función de los ambientes, *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*.

		Característica a nivel de parcela						
		RTO m⁻²	NG m⁻²	P1000	Espigas m⁻²	^aPSE m⁻²	^aCFE m⁻²	CFEm m⁻²
		(g m⁻²)	(n m⁻²)	(g)	(n m⁻²)	(g m⁻²)	(n gPSE⁻¹)	(n gCH⁻¹)
Ambiente ^a	E2	607 a	18.728a	32,5 a	649 a	161 a	118 b	78,9 a
	E3	572 a	17.974a	32,1 a	525 c	139 b	146 a	73,5 b
	E4	610 a	18.680a	32,9 a	606 b	----	---	63,3 c
<i>QFFE.perg-5A</i>	A	615	19.248	32,1	609	152	141	77,6
	B	576	17.674	32,9	578	149	123	66,9
<i>QFEm.perg-3A</i>	A	610		31,7	612	152	138	74,8
	B	581		32,9	576	148	126	69,6

^a Letras diferentes en Ambiente indican valores medios diferentes (Tukey $p < 0,05$), mientras que los valores en negrita indican diferencias en ANOVA (ANOVA $p < 0,05$). E2: Pergamino 2013, E3: Pergamino 2015, E4: Marco Juárez 2015. El alelo A es el aportado por B19 mientras que el B por B2002. RTO m⁻²: rendimiento por m⁻², NG m⁻²: número de granos m⁻², P1000: peso de mil granos, Espigas m⁻²: número de espigas m⁻², PSE m⁻²: peso seco de espiga m⁻², CFE m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga estimado a nivel de parcela, CFEm m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga a madurez estimado a nivel de parcela.

Cuadro 17. Valores medios para la combinación de Ambientes x *QFEm.perg-3A*, en las variables donde hubo tendencia a interacción ($p < 0,10$) o interacción significativa ($p < 0,05$).

Ambiente	<i>QFEm.perg-3A</i>	Característica a nivel parcela			
		RTO m ⁻² (g m ⁻²)	NG m ⁻² (n m ⁻²)	Espigas m ⁻² (g m ⁻²)	CFE m ⁻² (n gPSE ⁻¹) ^a
E2	A	593 ab	18.631 ab	646 a	116 b
	B	615 ab	18.827 ab	653 a	121 b
E3	A	600 ab	18.995 ab	548 bc	161 a
	B	544 b	16.953 b	502 c	132 ab
E4	A	637 a	20.356 a	641 a	-----
	B	584 ab	17.005 b	572 b	-----

Letras diferentes indican valores medios diferentes (Tukey $p < 0,05$), mientras que los valores en negrita indican diferencias en ANOVA ($p < 0,05$). E2: Pergamino 2013, E3: Pergamino 2015, E4: Marco Juárez 2015. El alelo A es el aportado por B19 mientras que el B por B2002. RTO m⁻²: rendimiento por m⁻², NG m⁻²: número de granos m⁻², Espigas m⁻²: número de espigas m⁻², CFE m⁻²: coeficiente de fertilidad de espiga estimado a nivel de parcela.

Este impacto positivo de los *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* a nivel de parcela refuerzan los resultados discutidos en el ítem previo, y la metodología de trabajo abordada. La presencia de los alelos que mejoran el NG (por espiga), debido a mayor coeficiente de fertilidad de espiga, no se asoció con menor número de espigas m⁻², lo cual si pudiera haber ocurrido si sólo se hubiera tenido en cuenta el NG (ver por ejemplo Gaju et al. 2009). Contrariamente, la presencia de los alelos que mejoran el coeficiente de fertilidad resultó en similar o mayor número de espigas m⁻², sin modificar el PSE m⁻². Ello se explicaría por el ideotipo de espiga discutido en el ítem previo, donde las espigas de alto coeficiente poseen menor inversión de materia seca en estructura de espiga. Entonces, ante igual partición de materia seca a espigas, estos ideotipos permitirían mantener e inclusive mejora también el número de espigas m⁻².

5.3. Contrastación de las hipótesis

A lo largo de los Capítulos (sección de Conclusiones) las hipótesis fueron contrastadas en detalle. A modo de resumen, entonces, podemos concluir que:

(i) *Las espigas con mayor coeficiente de fertilidad poseen menor longitud y son más compactas (menor CN), que aquellas de menor coeficiente de fertilidad. Al ser más cortas y compactas, invierten menor materia seca en componentes estructurales (PSE, Chaff). Como consecuencia de ello, el número de flores fértiles por espiguilla es mayor, incrementado de esta forma el número de flores fértiles por espiga.*

En base principalmente a resultados del Capítulo II esta hipótesis no se rechaza. Luego, en el Capítulo III, al estudiar los efectos pleiotrópicos de los QTL validados para coeficiente de fertilidad de espiga se volvió a validar esta hipótesis.

(ii) *Los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga poseen heredabilidad moderada a alta.*

En base a resultados del Capítulo II la hipótesis no se rechaza

(iii) *Existen regiones genómicas o QTL con efecto mayor y estable sobre el CFEa y CFE capaz de ser detectados a cosecha (CFEm).*

En base a los resultados del Capítulo III esta no se rechaza. Se identificaron 2 QTL para CFEa (cromosoma 5A y 1A), uno para CFE (cromosoma 5A) y dos para CFEm (cromosomas 5A y 3A). Los tres, identificados en el cromosoma 5A mapearon en el mismo lugar.

(iv) *Existe al menos un QTL para CFEa y/o CFE y/o CFEm posible de ser validado en una población independiente, permitiendo la estimación de su relación de dominancia.*

En base a resultados del Capítulo III no se rechaza. Se eligieron dos QTL, el del cromosoma 5A (para CFEa, CFe y CFEm) y el del 3A (para CFEm), y se pudieron validar, denominándose: *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A*.

(v) *El QTL más promisorio, que incrementa el CFEa y/o CFE, aumenta la fertilidad de las espiguillas (siguiendo el procedimiento planteado en la hipótesis i), reduce el peso seco de la espiga en antesis e incrementa el rendimiento por espiga a pesar de disminuir el peso de los granos.*

En base principalmente a los estudios de efectos pleiotrópicos de *QFFE.perg-5A* y *QFEm.perg-3A* del Capítulo III no se rechaza. Los resultados del Capítulo IV validan esta decisión.

(vi) *Existen regiones genómicas o QTL para los componentes estructurales y numéricos de la fertilidad de la espiga, el peso de espiga en antesis y el peso de grano.*

En base a los resultados del Capítulo IV se rechaza parcialmente, puesto que, si bien se encontraron QTL para casi todas las características, no se identificó ninguno para PSE y GST.

(vii) *Existen interacciones epistáticas entre los QTL detectados para componentes estructurales y numéricos de la fertilidad, peso de espiga en antesis y peso de grano.*

En base a los resultados del Capítulo IV, se rechaza parcialmente, porque sólo

para algunos de dichos caracteres (LE y GLPA), se pudieron detectar interacciones significativas.

5.4. Aportes novedosos

Los aportes más novedosos de este trabajo se podrían resumir en;

1. Definición de ideotipos de espigas de alto coeficiente de fertilidad de espiga a partir del estudio de los componentes estructurales y numéricos de la espiga y su relación con el CFEa y CFE, en germoplasma elite adaptado a la Pampa Ondulada.
2. Identificación y validación de dos QTL, uno para CFEa, CFE y CFEm (*QFFE.perg-5A*) y otro para CFEm (*QFEm.perg-3A*), con efectos positivos (+5% y +3%) y aditivos sobre el rendimiento de la espiga. Estos QTL se transformaron a marcadores KASP, siendo actualmente un producto disponible para uso en MAS para seleccionar por coeficiente de fertilidad de espiga de manera rápida, simple y económica en los programas de mejoramiento, en estados tempranos del proceso de selección.
3. Identificación de un QTL novel para peso de grano (*QGW.perg-6B*), con efecto positivo sobre el rendimiento de la espiga.
4. Identificación de QTL novel para: longitud de espiga (*QSL.perg-7A*), número total de espiguillas por espiga (*QTS.perg-3A*), compactación de espiga (*QCN.perg-2A*), flores fértiles por espiga (*QFF.perg-2B* y *QFF.perg-7B*), número de espiguillas fértiles (*QFS.perg-3A* y *QFS.perg-5B*), flores fértiles por espiguilla (*QFFTS.perg-5A* y *QFFTS.perg-5B*), flores fértiles por espiguilla fértil (*QFFFS.perg-7B*), peso de raquis (*QR.perg-2A*, *QR.perg-3B* y *QR.perg-6A*), peso

de gluma+lema+palea+arista (*QGLPA.perg-1A*, *QGLPA.perg-3A*, *QGLPA.perg-5B* y *QGLPA.perg-7A*) y peso de chaff (*QCH.perg-1A* y *QCH.perg-2B*).

5. Identificación de seis hot spots promisorias para utilizar en MAS que agrupan gran parte de los QTL novel descritos en el ítem previo, dos de ellas promisorias para usar en MAS dado su efecto pleiotrópico sobre el rendimiento de espiga (región R5A.1, incluyendo a *QSL.perg-5A*, *QCN.perg-5A* y *QGN.perg-5A* y región R5A.2, conteniendo a *QGW.perg-5A* y *QFFTS.perg-5A*).

5.5. Perspectivas a futuro

Existen en principio cuatro alternativas no excluyentes a seguir en el estudio del coeficiente de fertilidad de la espiga. Desde el punto de la utilización de los marcadores KASP para seleccionar tempranamente fertilidad de espiga, el primer paso sería genotipar los nuevos cultivares de trigo liberados en la Región Pampeana para determinar el grado de variabilidad de estos marcadores y así estimar su valor real para los programas de mejoramiento. Considerando que el *QFFE.perg-5A* presenta recesividad incompleta, es muy probable que el alelo de alta fertilidad no se encuentre fijado en los cultivares modernos, a pesar de su alto impacto en el número de granos y rendimiento. En esta misma línea, la cuantificación final de la utilidad de los QTL identificados y validados o de las regiones identificadas como promisorias provendrá del uso de éstos en programas de mejoramiento para selección temprana (F₂) y la posterior evaluación del coeficiente de fertilidad de espiga, el número de granos generados y el rendimiento final en generaciones avanzadas (F₆). Poder realizar MAS en etapas tempranas por una o varias características secundarias (asociadas al número de granos y rendimiento, en nuestro caso) permitiría eliminar líneas con valores bajos para las mismas, enriqueciendo la

progenie con líneas (y genes) más promisorios, aumentando la probabilidad de obtener líneas superiores (con mayor rendimiento, en nuestro caso) (Bernado 2008). Por otro lado, poder realizar mayor presión de selección en estados tempranos (F_2), permite avanzar más líneas o aumentar los sitios de evaluación en F_5/F_6 (nivel de parcela), lo cual resulta en un aumento de la tasa de ganancia genética (aumenta la probabilidad de líneas con mejor combinación de genes o mejora la heredabilidad al aumentar el número de ambientes evaluados) (Bernardo 2008).

Dado que este trabajo se focalizó en estudiar QTL estables entre ambientes y de efecto mayor, la mayoría de los QTL identificados no fueron considerados como promisorios. Considerando todas las características estudiadas, se identificaron 377 QTL, pero sólo 31 de ellos, es decir sólo el 8%, se consideraron estables y mayores, mientras que el resto presentó baja estabilidad entre ambientes y/o efecto menor. Esto no es sorprendente y suele ser una de las limitantes para el uso de QTL en programas de mejoramiento. Un aspecto interesante abordado por este trabajo es el estudio de los factores biológicos/ambientales que se encuentran detrás de esta baja estabilidad del 92% de los QTL identificados, lo que permitiría comprender la naturaleza de las inetracciones y valorizar estos QTL no considerados en este trabajo.

Desde el punto de vista ecofisiológico, una forma de cuantificar el impacto de estos QTL en una escala superior, es decir sobre el rendimiento del cultivo, es a través del desarrollo de líneas isogénicas, proceso que se encuentra actualmente en desarrollo por el grupo de trabajo en que se hizo esta tesis. Finalmente, desde el punto de vista genético, la realización de un mapa más denso en las regiones de los QTL identificados, permitirá determinar genes candidatos y así comprender los procesos moleculares y

fisiológicos finos involucrados. Esta línea también se encuentra actualmente en desarrollo.

CAPÍTULO VI: Bibliografía

- Abbate, P., Andrade, F., Culot, J., Bindraban, P. (1997). Grain yield in wheat: effects of radiation during spike growth period. *Field Crops Research*, 54, 245-257.
- Abbate, P., Andrade, F., Lazaro, L., Bariffi, J., Berardocco, H., Inza, V., Marturano, F. (1998). Grain yield increase in recent Argentine wheat cultivars. *Crop Science*, 38, 1203-1209.
- Abbate, P., Pontaroli, A., Lázaro, L., Gutheim, F. (2013). A method of screening for spike fertility in wheat. *Journal of Agricultural Science*, 151, 322-330.
- Acreche, M., Slafer, G. (2006). Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. *Field Crops Reserch*, 86, 52-59.
- Acreche, M., Briceño-Félix, G., Sánchez, J., Slafer, G. (2008). Physiological bases of genetic gains in Mediterranean bread wheat yield in Spain. *European Journal of Agronomy*, 28, 162–170.
- Aisawi, K., Reynolds, M., Singh, R., Foulkes, M. (2015). The physiological basis of the genetic progress in yield potential of CIMMYT spring wheat cultivars from 1966 to 2009. *Crop Science*, 55, 1749-1764.
- Alonso, M., Panelo, J., Mirabella, N., Pontaroli, A. (2018). Selection for high spike fertility index increases genetic progress in grain yield and stability in bread wheat. *Euphytica*, 214, 112.
- Andrade, F. (2011). La tecnología y la producción agrícola. El pasado y los actuales desafíos. *INTA Balcarce-Facultad de Ciencias Agrarias, UNMP. (INTA eds.)*.

- Appels, R., Eversole, K., Feuillet, C., Keller, B., Rogers, J., Pozniak, C., . . . Distelfeld, A. (2018). Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science*, *361*, 6403.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Royo, C., & Serret, D.M. (2008). Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. *Critical Reviews in Plant Sciences* *27*, 377–412.
- Basile, S., Ramirez, I., Crescente, J., Conde, M., Demichelis, M., Abbate, P., Rogers, W.J., Pontaroli, A.C., Helguera M., Vanzetti, L. (2019). Haplotype block analysis of an Argentinean hexaploid wheat collection and GWAS for yield components and adaptation. *BMC Plant Biology*, *19*, 553.
- Beales, J., Turner, A., Griffiths, S., Snape, J., Laurie, D. (2007). A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive Ppd-D1a mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *115*(5), 721-733.
- Bernadro, R. 2008. Molecular Markers and Selection for Complex Traits in Plants: Learning from the Last 20 Years. *Crop Sci* *48*, 1649-1664
- Bhatramakki, D., Dolan, M., Hanafey, M., Wineland, R., Vaske, D., Register III, J., Tingey, S.V., Rafalski, A. (2002). Insertion-deletion polymorphisms in 3' regions of maize genes occur frequently and can be used as highly informative genetic markers. *Plant Molecular Biology*, *48*(5-6), 539-47.
- Borlaug, N. (2007). Sixty-two years of fighting hunger: personal recollections. *Euphytica*, *157*, 287-297.
- Borrás, L., Slafer, G., Otegui, M. (2004). Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research*, *86*, 131–146.

- Börner, A., Schumann, E., Fürste, A., Cöster, H., Leithold, B., Röder, M., Weber, W. (2002). Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *105*, 921-936.
- Brett, M. (2004). When is a correlation between non-independent variables “spurious”? *OIKOS*, *105*, 647-656.
- Broman, K., Wu, H., Sen, S., Churchill, G. (2003). R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics*, *19*, 889–890.
- Bustos-Korts, D., Hasan, A., Reynolds, M., Calderini, D. (2013). Combining high grain number and weight through a DH-population to improve grain yield potential of wheat in high-yielding environments. *Field Crops Research*, *145*, 106-115.
- Calderini, D., Slafer, G. (1998). Changes in yield and yield stability in wheat during the 20th century. *Field Crops Research*, *57*, 335-347.
- Calderini, D., Reynolds, M., Slafer, G. (1999). Genetic gains in wheat yield main physiological changes associated with them during the 20 th century. En E. Satorre, G. Slafer (Edits.), *Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination* (págs. 351-377). New York: Food Product Press.
- Calderini DF, Savin R, Abeledo LG, Reynolds MP, Slafer GA. 2001. The importance of the immediately preceding anthesis period for grain weight determination in wheat. *Euphytica*, *119*, 199-204.
- Chand, R. (2009). CAB Reviews: Perspectives in agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources No. 065.

- Chen, D., Wu, X., Wu, K., Zhang, J., Liu, W., Yang, X., Li, X., Lu, Y., Li, L. (2017). Novel and favorable genomic regions for spike related traits in a wheat germplasm Pubing 3504 with high grain number per spike under varying environments. *Journal of Integrative Agriculture*, 16, 2386–2401.
- Collard, B., Jahufer, M., Brouwer, J., Pang, E. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142 (1-2), 169-196.
- Cui, F., Ding, A., Li, J., Zhao, C., Wang, L., Wang, X., Qi, X., Li, X., Wang, H. (2012). QTL detection of seven spike-related traits and their genetic correlations in wheat using two related RIL populations. *Euphytica*, 186, 177–192.
- Curin, F., Otegui, M., González, F.G. (2021). Wheat yield progress and stability during the last five decades in Argentina. *Field Crops Research*, 269 (108183).
- Cuthbert, J., Somers, D., Brûlé-Babel, A., Brown, P., Crow, G. (2008). Molecular mapping of quantitative trait loci for yield and yield components in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 117, 595–608.
- Daba, S., Tyagi, P., Brown-Guedira, G., Mohammadi, M. (2018). Genome-Wide Association Studies to Identify Loci and Candidate Genes Controlling Kernel Weight and Length in a Historical United States Wheat Population. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1045.
- Dao, H., Byrne, P., Reid, S., Haley, S. (2017). Validation of quantitative trait loci for grain quality-related traits in a winter wheat mapping population. *Euphytica*, 213, 5.

- De Buyser, J., Henry, Y. (1980). Comparison of different media used in culturing anthers in vitro in soft wheat. *Canadian Journal of Botany*, 58(8), 997-1000.
- Del Pozo, A., Mathus, I., Serret, M., Araus, J. (2014). Agronomic and physiological traits associated with breeding advances of wheat under high productive Mediterranean conditions. The case of Chile. *Environmental and Experimental Botany*, 130, 180-189.
- Demotes-Mainard, S., Jeuffroy, M., Robin, S. (1999). Spike dry matter and nitrogen accumulation before anthesis in wheat as affected by nitrogen fertiliser: relationship to kernels per spike. *Field Crops Research*, 64, 249-259.
- Deng, Z., Cui, Y., Han, Q., Fang, W., Li, J., Tian, J. (2017). Discovery of Consistent QTLs of Wheat Spike-Related Traits under Nitrogen Treatment at Different Development Stages. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2120.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. (2016). *Grupo InfoStat, FCA*, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Ding, A., Li, J., Cui, F., Zhao, C., Ma, H., Wang, H. (2011). Mapping QTLs for Yield Related Traits Using Two Associated RIL Populations of Wheat. *Acta Agronómica Sinica*, 37, 1511-1524.
- Dreccer, M., van Herwaarden, A., Chapman, S. (2009). Grain number and grain weight in wheat lines contrasting for stem water soluble carbohydrate concentration. *Field Crops Research*, 112, 43-54.
- Dreccer, M.F., Chapman, S.C., Rattey, A.R., Neal, J., Song, Y., Christopher, J.J., & Reynolds, M. (2013). Developmental and growth controls of tillering and water-

soluble carbohydrate accumulation in contrasting wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes: can we dissect them? *Journal of Experimental Botany*, 64(1),143-60.

Elía, M., Savin, R., Slafer, G. (2016). Fruiting efficiency in wheat: physiological aspects and genetic variation among modern cultivars. *Field Crop Res*, 191, 83–90.

Evans, L.T. 1993. Crop Evolution, adaptation and yield. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Falconer, D. (1960). Introduction to quantitative genetics. *New York: Ronald Press Co.*

Falconer, D. (1989). Introduction to Quantitative Genetics. En J. W. Sons (Ed.).

Fan, X., Cui, F., Ji, J., Zhang, W., Zhao, X., Liu, J., Meng, D., Tong, Y., Wang, T., Li, J. (2019). Dissection of Pleiotropic QTL Regions Controlling Wheat Spike Characteristics Under Different Nitrogen Treatments Using Traditional and Conditional QTL Mapping. *Frontiers in Plant Science*, 10(187).

FAO. (2016). *Food And Agriculture Organization*. <http://www.fao.org/3/a-i5703e.pdf>.

Ferrante, A., Savin, R., Slafer, G. (2012). Differences in yield physiology between modern, well adapted durum wheat cultivars grown under contrasting conditions. *Field Crop Research*, 136, 52–64.

Ferrante, A., Savin, R., & Slafer, G.A. (2020). Floret development and spike fertility in wheat: differences between cultivars of contrasting yield potential and their sensitivity to photoperiod and soil N. *Field Crops Research*, 256, 114–127.

Fischer, R. (1975). Yield potential in a dwarf spring wheat and the effect of shading. *Crop Science*, 5, 607-614.

- Fischer, R. (1984). Wheat. In: Smith WH, Banta, SJ (Eds.). *Symposium on potential productivity of field crops under different environments, IRRI*, 129-153. Los Baños, Philippines.
- Fischer, R. (1985). Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *Journal of Agricultural Science*, 100, 447-461.
- Fischer, R. (1993). Irrigated spring wheat and timing and amount of nitrogen fertilizer. II. Physiology of grain yield response. *Field Crops Research*, 33, 57-80.
- Fischer, R. (2007). Understanding the physiological basis of yield potential in wheat. *Journal of Agriculture Science*, 145, 99-113.
- Fischer RA. (2011). Wheat physiology: A review of recent developments. *Crop and Pasture Science* 62, 95.
- Fischer, R., Edemeades, G. (2010). Breeding and Cereal Yield Progress. *Crop Science*, 50, S-85-S-98.
- Fischer, R., HilleRisLambers, D. (1978). Effect of environment and cultivar on source limitation to grain weight in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 443-458.
- Fischer, R., Rebetzke, G. (2018). Indirect selection for potential yield in early-generation, spaced plantings of wheat and other small-grain cereals: a review. *Crop and Pasture Science*, 69, 439-459.
- Fischer, R., Stockman, Y. (1980). Kernel number per spike in wheat (*Triticum aestivum* L.) – responses to preanthesis shading. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7, 169–180.

- Fischer, R., Bayerlee, D., Edmeades, G. (2014). Crop yields and global food security: Will yield increase continue to feed the world?. *European Review of Agricultural Economics*, 191-192.
- Foulkes, M., Reynolds, M. (2015). Breeding challenge: Improving yield potential. En V. Sadras, D. Calderini (Edits.), *Crop Physiology*, 16, 397-421.
- Foulkes, M., Hawkesford, M., Barraclough, P., Holdsworth, M., Kerr, S., Kightley, S., Shewry, P. (2010). Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: Recent advances and future prospects. *Field Crops Research*, 114, 329–342.
- Fu, D., Szűcs, P., Yan, L., Helguera, M., Skinner, J., von Zitzewitz, J., Hayes, P.M., Dubcovsky, J. (2005). Large deletions within the first intron in VRN-1 are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 273, 54–65.
- Gaju, O., Reynolds, M.P., Sparkes, D.L., & Foulkes, M.J. (2009). Relationships between large-spike phenotype, grain number, and yield potential in spring wheat. *Crop Science*, 49, 961-973.
- Gao, F., Wen, W., Liu, J., Rasheed, A., Yin, G., Xia, X., Wu, X., He, Z. (2015). Genome-wide linkage mapping of QTL for yield components, plant height and yield-related physiological traits in the Chinese wheat cross Zhou 8425B/Chinese Spring. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1099.
- García, G., Serrago, R., González, F., Slafer, G., Reynolds, M., Miralles, D. (2014). Wheat grain number: Identification of favourable physiological traits in an elite doubled-haploid population. *Field Crops Research*, 168, 126-134.

- Gazaba, L., González, F., Arisnabarreta, D. (2018). *Coefficiente de fertilidad de la espiga en trigo (Triticum aestivum L): Determinación de la heredabilidad en poblaciones haploides duplicadas adaptadas al norte de Buenos Aires*. Tesis para optar al título de magister en genética vegetal, Universidad Nacional de Rosario.
- Gerard, G., Alqudah, A., Lohwasser, U., Börner, A., Simón, M. (2019). Uncovering the Genetic Architecture of Fruiting Efficiency in Bread Wheat: A Viable Alternative to Increase Yield Potential. *Crop Science*, 59, 1-17.
- Ghiglione, H., González, F., Serrago, R., Maldonado, S., Chilcott, C., Cura, J., Miralles, D.J., Zhu, T., Casal, J. (2008). Autophagy regulated by daylength sets the number of fertile florets in wheat. *Plant Journal*, 55, 1010–1024.
- González, F., Slafer, G., Miralles, D. (2003). Grain and floret number in response to photoperiod during stem elongation in fully and slightly vernalized wheats. *Field Crops Research*, 81, 17-27.
- González, F., Miralles, D., Slafer, G. (2011a). Wheat floret survival as related to pre-anthesis spike growth. *Journal of Experimental Botany*, 62, 4889–4901.
- González, F., Terrile, I., Falcón, M. (2011b). Spike Fertility and Duration of Stem Elongation as Promising Traits to Improve Potential Grain Number (and Yield): Variation in Modern Argentinean Wheats. *Crop Science*, 51 (4), 1693.
- González, F., Aldabe, M., Terrile, I., Rondanini, D. (2014). Grain weight response to different postflowering source: sink ratios in modern high-yielding Argentinean wheats differing in spike fruiting efficiency. *Crop Science*, 54, 297-309.
- Griffiths, S., Wingen, L., Pietragalla, J., Garcia, G., Hasan, A., Miralles, D., Calderini, D.F., Ankleshwaria, J.B., Waite, M.L., Simmonds, J., Snape, J., Reynolds, M.

- (2015). Genetic dissection of grain size and grain number trade-offs in CIMMYT wheat germplasm. *PLoS ONE*, *10*, e0118847.
- Guan, P., Lu, L., Jia, L., Kabir, M., Zhang, J., Lan, T., Zhao, Y., Xin, M., Hu, Z., Yao, Y., Ni, Z., Sun, Q., Peng, H. (2018). Global QTL analysis identifies genomic regions on chromosomes 4A and 4B harboring stable loci for yield-related traits across different environments in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, *9*, 529.
- Guo, Z., Slafer, G., Schnurbusch, T. (2016). Genotypic variation in spike fertility traits and ovary size as determinants of floret and grain survival rate in wheat. *Journal of Experimental Botany*, *67*, 4221–4230.
- Guo, Z., Chen, D., Alqudah, A., Röder, M., Ganal, M., Schnurbusch, T. (2017). Genome-wide association analyses of 54 traits identified multiple loci for the determination of floret fertility in wheat. *New Phytologist*, *214*, 257–270.
- Guo, J., Shi, W., Zhang, Z., Cheng, J., Sun, D., Yu, J., Li, X., Guo, P., Hao, G. (2018). Association of yield-related traits in founder genotypes and derivatives of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, *18*.
- Hall, T., Cho, J., Kelley, M., Hocking, W. (1992). A re-evaluation of the Stokes drift in the polar summer mesosphere. *Journal of Geophysical Research*, *97*, 887-897.
- Hallauer, A.R. and Miranda, J.H. (1981) Quantitative Genetics in Maize Breeding. Iowa State University Press, Ames, 124-126.
- Hay, R., Kirby, E. (1991). Convergence and synchrony—a review of the coordination of development in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, *42*, 661–700.

- Jackson, P., Robertson, M., Cooper, M., Hammer G. (1996). The role of physiological understanding in plant breeding; from a breeding perspective. *Field Crops Research*, 49, 11–39.
- Jantasuriyarat, C., Vales, M., Watson, C., Riera-Lizarazu, O. (2004). Identification and mapping of genetic loci affecting the free-threshing habit and spike compactness in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 261-273.
- Jones, E., Sullivan, H., Bhatramakki, D., Smith, J. (2007). A comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies for the genotypic analysis of maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetic*, 115, 361–371.
- Kato, K., Miura, H., Sawada, S. (2000). Mapping QTLs controlling grain yield and its components on chromosome 5A of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 1114–1121.
- Kirby, E. (1988). Analysis of leaf, stem and ear growth in wheat from terminal spikelet stage to anthesis. *Field Crops Research*, 18, 127-140.
- Kuzay, S., Xu, Y., Zhang, J., Katz, A., Pearce, S., Su, Z., Fraser, M., Anderson, J.A., Brown-Guedira, G., DeWitt, N., Peters Haugrud, A., Faris, J.D., Akhunov, E., Bai, G., Dubcovsky, J. (2019). Identification of a candidate gene for a QTL for spikelet number per spike on wheat chromosome arm 7AL by high-resolution genetic mapping. *Theoretical and Applied Genetics*, 132, 2689-2705.
- Lázaro, L., Abbate, P. (2012). Cultivar effects on relationship between grain number and photothermal quotient or spike dry weight in wheat. *The Journal of Agricultural Science*, 150, 442-459.

- Langer, R., Hanif, M. (1973). A study of floret development in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany*, 37, 743-751.
- Li, C., Bai, G., Carver, B., Chao, S., Wang, Z. (2015). Single nucleotide polymorphism markers linked to QTL for wheat yield traits. *Euphytica*, 4, 1-11.
- Li, F., Wen, W., He, Z., Liu, J., Jin, H., Cao, S., Geng, H., Yan, J., Zhang, P., Wan, Y., Xia, X. (2018). Genome-wide linkage mapping of yield-related traits in three Chinese bread wheat populations using high-density SNP markers. *Theoretical and Applied Genetic*, 131, 1903-1924.
- Liu, J., Xu, Z., Fan, X., Zhou, Q., Cao, J., Wang, F., Ji, G., Yang, L., Feng, B., Wang, T. (2018). A Genome-Wide Association Study of Wheat Spike Related Traits in China. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1584.
- Lo Valvo, P., Miralles, D., Serrago, R. (2018). Genetic progress in Argentine bread wheat varieties released between 1918 and 2011: Changes in physiological and numerical yield components. *Field Crops Research*, 221, 314-321.
- Ma, Z., Zhao, D., Zhang, C., Zhang, Z., Xue, S., Lin, F., Kong, Z., Tian, D., Luo, Q. (2007). Molecular genetic analysis of five spike-related traits in wheat using RIL and immortalized F2 populations. *Molecular Genetics and Genomics*, 277, 31-42.
- Ma, Y., Chen, G., Zhang, L., Liu, Y., Liu, D., Wang, J., Pu, Z., Zhang, L., Lan, X., Wei, Y., Liu, C., Zheng, Y. (2014). QTL Mapping for Important Agronomic Traits in Synthetic Hexaploid Wheat Derived from *Aegilops tauschii* ssp. *tauschii*. *Journal of Integrative Agriculture*, 13, 1835-1844.

- Ma, F., Xu, Y., Ma, Z., Li, L., An, D. (2018). Genome-wide association and validation of key loci for yield-related traits in wheat founder parent Xiaoyan 6. *Molecular Breeding*, 38.
- Mahibbur, M., Govindarajulu, Z. (1997). A modification of the test of Shapiro and Wilk for normality. *Journal of Applied Statistics*, 24, 219-236.
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R., Kumpatla, S. (2012). SNP markers and their impact on plant breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 2012, e728398.
- Martino, D., Abbate, P., Cendoya, M., Gutheim, F., Mirabella, N., Pontaroli, A. (2015). Wheat spike fertility: inheritance and relationship with spike yield components in early generations. *Plant Breeding*, 134, 264-270.
- Mirabella, N., Abbate, P., Ramirez, I., Pontaroli, A. (2016). Genetic variation for wheat spike fertility in cultivars and early breeding materials. *Journal of Agriculture Science*, 154, 13-22.
- Miralles, D., Slafer, G. (1995). Individual grain weight responses to genetic reduction in culm length in wheat as affected by source-sink manipulations. *Field Crops Research*, 43, 55-66.
- Mo, Y., Vanzetti, L., Hale, I., Spagnolo, E., Guidobaldi, F., Al-Oboudi, J., Odle, N., Pearce, S., Helguera, M., Dubcovsky, J. (2019). Identification and characterization of Rht25, a locus on chromosome arm 6AS affecting wheat plant height, heading time, and spike developme. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 2021-2035.
- ONU. (2021). Obtenido de <https://www.un.org/es/global-issues/population>

- Pang, Y., Liu, C., Wang, D., et al. (2020) High-Resolution Genome-wide Association Study Identifies Genomic Regions and Candidate Genes for Important Agronomic Traits in Wheat. *Molecular Plant*, 13, 1311–27.
- Pérez-Gianmarco, T., Slafer, G., González, F. (2020). *Regulación del desarrollo en trigo por los genes de sensibilidad a fotoperiodo Ppd-1*. Tesis para optar al título de doctor en ciencias agropecuarias, Universidad de Buenos Aires.
- Perry, M., D'Antuono, M. (1989). Yield improvement and associated characteristics of some Australian spring wheat cultivars introduced between 1860 and 1982. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40, 457-472.
- Pflüger, L., D'Ovidio, R., Margiotta, B., Peña, R., Mujeeb-Kazi, A., Lafiandra, D. (2001). Characterization of high- and low-molecular weight glutenin subunits associated to the D genome of *Aegilops tauschii* in a collection of synthetic hexaploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 1293–1301.
- Pretini, N., Terrile, I., Gazaba, L., Donaire, G., Arisnabarreta, S., Vanzetti, L., González, F. (2020a). *A comprehensive study of spike fruiting efficiency in wheat*, 60, 1541-1555.
- Pretini, N., Vanzetti, L., Terrile, I., Börner, A., Plieske, J., Ganal, M., Röder, M., González, F. (2020b). Identification and validation of QTL for spike fertile floret and fruiting efficiencies in hexaploidy wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 133, 2655-2671.
- Quail, K.J., Fischer, R.A., & Wood, J.T. (1989). Early generation selection in wheat. I. Yield potential. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40, 1117–1133.

- Ramírez-González, R., Uauy, C., Caccamo, M. (2015). PolyMarker: A fast polyploid primer design pipeline: Fig. 1. *Bioinformatics*, 31, 2038–2039.
- Ray, D., Mueller, N., West, P., Floey, J. (2013). Yields are insufficient to double global crop production by 2050. *Plos One*, 8.
- Reynolds, M., Rajaram, S., McNab, A. (1996). *Increasing yield potential in wheat: breaking the barriers. Proceedings of a workshop held in Ciudad Obregon, Sonora, Mexico*. Mexico: CIMMYT.
- Reynolds, M., Foulkes, M., Slafer, G., Berry, P., Parry, M., Snape, J., Angus, W. (2009). Raising yield potential in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60, 1899-1918.
- Reynolds, M., Bonnett, D., Chapman, S., Furbank, R., Manes, Y., Mather, D., Parry, M. (2010). Raising yield potential of wheat: (I) overview of a consortium approach and breeding strategies. *Journal of Experimental Botany*, 62, 439-52.
- Reynolds, M., Foulkes, J., Furbank, R., Griffiths, S., King, J., Murchie, E., Parry M., Slafer, G. (2012). Achieving yield gains in wheat. *Plant, Cell and Environment*, 35, 1799-823.
- Rivera-Amado, C., Trujillo-Negrellos, E., Molero, G., Reynolds, M., Sylvester-Bradley, R., Foulkes, M. (2019). Optimizing dry-matter partitioning for increased spike growth, grain number and harvest index in spring wheat. *Field Crops Research*, 240, 154-167.
- Roncallo, P., Akkiraju, P., Cervigni, G., Echenique, V. (2017). QTL mapping and analysis of epistatic interactions for grain yield and yield-related traits in *Triticum turgidum* L. var. *durum*. *Euphytica*, 213:277.

- Sadras, V., Lawson, C. (2011). Genetic gain in yield and associated changes in phenotype, trait plasticity and competitive ability of south Australian wheat varieties released between 1958 and 2007. *Crop and Pasture Science*, 62, 533–549.
- Sakuma, S., Golan, G., Guo, Z., Ogawa, T., Tagiri, A., Sugimoto, K., Bernhardt, N., Brassac, J., Mascher M., Hensel G., Ohnishi, S., Jinno, H., Yamashita, Y., Ayalon, I., Peleg, Z., Schnurbusch, T., Komatsuda, T. (2019). Unleashing floret fertility in wheat through the mutation of a homeobox gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116, 5182-5187.
- Savin, R., Slafer, G. (1991). Shading effects on the yield of an Argentinean wheat cultivar. *Journal of Agricultural Science*, 116, 1-7.
- Sayre, K., Rajaram, S., Fischer, R. (1997.). Yield potential progress in short bread wheat in Northwest Mexico. *Crops Science*, 37, 36-42.
- Shearman, V., Sylvester-Bradley, R., Scott, R., Foulke, M. (2005). Physiological processes associated with wheat yield progress in the UK. *Crop Science*, 45, 175-185.
- Sibony, M., Pinthus, M. (1988). Floret initiation and development in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany*, 61, 473–479.
- Siddique, K., Kirby, E., Perry, M. (1989a). Ear stem ratio in old and modern wheat-varieties – relationship with improvement in number of grains per ear and yield. *Field Crop Research*, 21, 59-78.
- Siddique, K., Belford, R., Perry, M., Tennant, D. (1989b). Growth, development and light interception of old and modern wheat cultivars in a Mediterranean- type environment. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40, 473-487.

- Slafer, G. (2003). Genetic bases of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Annals of Applied Biology*, 142, 117-128.
- Slafer, G., Andrade, F. (1989). Genetic improvement in bread wheat (*Triticum aestivum*) yield in Argentina. *Field Crops Research*, 21, 289-296.
- Slafer, G., Andrade, F. (1993). Physiological attributes to the generation of grain yield in bread wheat cultivars released at different eras. *Field Crops Research*, 31, 351-367.
- Slafer, G., Araus, J. (2007). Physiological traits for improving wheat yield under a wide range of conditions. In *Scale and Complexity in Plant Systems Research: GenePlant-Crop Relations*, 12, 145-154.
- Slafer, G., Andrade, F., Satorre, E. (1990). Genetic-improvement effects on pre-anthesis physiological attributes related to wheat grain-yield. *Field Crops Research*, 23, 255-263.
- Slafer, G., Calderini, D., Miralles, D. (1996). Yield components and compensation in wheat: Opportunities for further increasing yield potential. En M. Reynolds, S. Rajaram, A. McNab (Eds.), *Increasing yield potential in wheat: Breaking the barriers*, 101-133. México DF: CIMMYT.
- Slafer, G., Elia, M., Savin, R., García, G., Terrile, I., Ferrante, A., Miralles, D. (2015). Fruiting efficiency: an alternative trait to further raise wheat yield. *Food and Energy Security*, 92-109.
- Snape, J., Moore, G. (2007). Reflections and Opportunities: Gene discovery in the complex wheat genome. En: Wheat production in stressed environments. En H. Buck, J. Nisi, N. Salomon (Ed.), *Proceedings of the 7th International wheat*

- conference* (págs. 677-684). Mar del Plata, Argentina: Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Snape, J., Foulkes, M., Simmonds, J., Leverington, M., Fish, L., Wang, Y., Ciavarrella, M. (2007). Dissecting gene x environmental effects on wheat yields via QTL and physiological analysis. *Euphytica*, 154, 401-408.
- Stanfield, W.D. (1971). *Genética. Teoría y 440 problemas resueltos*. Segunda ed. Serie Schaum, McGraw-Hill, México. 405.
- Stapper, M., Fischer, R. (1990). Genotype, sowing date and plant spacing influence on high-yielding irrigated wheat in southern New South Wales. II. Growth, yield and nitrogen use. *Australian Journal of Agricultural Research*, 41, 1021-1041.
- Stockman, Y., Fischer, R., & Brittain, E. (1983). Assimilate supply and floret development within the spike of wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, 10, 585-594.
- Stone, B. (1968). A Formula for Determining Degree of Dominance in Cases of Monofactorial Inheritance of Resistance to Chemicals. *Bull World Health Organ*, 38, 325-326.
- Su, Z., Hao, C., Wang, L., Dong, Y., Zhang, X. (2011). Identification and development of a functional marker of TaGW2 associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 122, 211-223.
- Sukumaran, S., Lopes, M., Dreisigacker, S., Reynolds, M. (2018). Genetic analysis of multi-environmental spring wheat trials identifies genomic regions for locus-specific trade-offs for grain weight and grain number. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 985-998.

- Tang, Y., Li, J., Wu, Y., Wei, H., Li, C., Yang, W., Chen, F. (2011). Identification of QTL for yield-related traits in the recombinant inbred line population derived from the cross between a synthetic hexaploidy wheat-derived variety Chuanmai 42 and a Chinese elite Variety Chuannong 16. *Agricultural Sciences in China*, 10, 1665-1680.
- Terrile, I., Miralles, D., González, F. (2017). Fruiting efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L): trait response to different growing conditions and its relation to spike dry weight at anthesis and grain weight at harvest. *Field Crops Research*, 201, 86–96.
- Thorne, G., Wood, D. (1987). Effects of radiation and temperature on tiller survival, grain number and grain yield in winter wheat. *Annals of Botany*, 59, 413-426.
- Tweeten, L., Thompson, S. (2008). Long-term agricultural output supply-demand balance and real farm and food prices. *Working paper AEDE-WP 0044-08*, Ohio State University, Columbus, OH.
- Voorrips, R.E., 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93, 77-78.
- Würschum, T., Leiser, W., Langer, S., Tucker, M., Longin, C. (2018). Phenotypic and genetic analysis of spike and kernel characteristics in wheat reveals long-term genetic trends of grain yield components. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 2071-2084.
- Waddington, S., Cartwright, P., Wall, P. (1983). A quantitative scale of spike initial and pistil development in barley and wheat. *Annals of Botany*, 51, 119–130.

- Waddington, S., Ranson, J., Osmanzai, M., Saunders, S. (1986). Improvement in the yield potential of bread wheat adapted to the northwest Mexico. *Crop Science*, 26, 698-703.
- Wang, R., Hai, L., Zhang, X., You, G., Yan, C., Xiao, S. (2009). QTL mapping for grain filling rate and yield-related traits in RILs of the Chinese winter wheat population Heshangmai x Yu8679. *Theoretical and Applied Genetics*, 118, 313-25.
- Wang, J., Liu, W., Wang, H., Li, L., Wu, J., Yang, X., Wang, J., Yang, X., Li, X., Gao, A. (2011). QTL mapping of yield-related traits in the wheat germplasm 3228. *Euphytica*. 177, 277–92.
- Wang, S., Basten, C., Zeng, Z. (2012). Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Wang, S., Wong, D., Forrest, K., Allen, A., Chao, S., Huang, B., Maccaferri, M., Salvi, S., Milner, S.G., Cattivelli, L., Lillemo, L. (2014). Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90,000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnology Journal*, 12, 787-796.
- Wang, S., Zhu, Y., Zhang, D., Shao, H., Liu, P., Hu, J., Zhang, H., Zhang, H., Chang, C., Lu, J., Xia, X., Sun, G., Ma, C. (2017). Genome-wide association study for grain yield and related traits in elite wheat varieties and advanced lines using SNP markers. *PLoS One*, 12, e0188662.
- Wu, X., Chang, X., Jing, R. (2012). Genetic insight into yield-associated traits of wheat grown in multiple rain-fed environments. *PLoS One*, 7, e31249.
- Xu, Y., Crouch, J.H. (2008) Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Science*, 4, 391–407.

- Wang, R., Tong, Y., Zhao, H., Xie, Q., Liu, D., Zhang, A., Li, B., Xu, H., An, D. (2014). Mapping QTLs for yield and nitrogen-related traits in wheat: influence of nitrogen and phosphorus fertilization on QTL expression. *Theoretical and Applied Genetics*, 127, 59–72.
- Yan, L., Helguera, M., Kato, K., Fukuyama, S., Sherman, J., Dubcovsky, J. (2004). Allelic variation at the VRN-1 promoter region in polyploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1677–1686.
- Yao, H., Xie, Q., Xue, S., Luo, J., Lu, J., Kong, Z., Wang, Y., Zhai, W., Lu, N., Wei, R., Yang, Y., Han, Y., Zhang, Y., Jia, H., Ma, Z. (2019). HL2 on chromosome 7D of wheat (*Triticum aestivum* L.) regulates both head length and spikelet number. *Theoretical and Applied Genetics*, 32, 1789-1797.
- Youssefian, S., Kirby, E., Gale, M. (1992). Pleiotropic effects of the GA-insensitive Rht dwarfing genes in wheat. 2. Effects on leaf, stem, ear and floret growth. *Field Crops Research*, 28, 191-210.
- Yu, M., Mao, S., Hou, D., Chen, G., Pu, Z., Li, W., Lan, W., Jiang, Q., Liu, Y., Deng, M., Wei, Y. (2018). Analysis of contributors to grain yield in wheat at the individual quantitative trait locus level. *Plant Breeding*, 137, 35–49.
- Zadoks, J., Chang, T., Konzak, C. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14, 415-421.
- Zhai, H., Feng, Z., Li, J., Liu, X., Xiao, S., Ni, Z., Sun, Q. (2016). QTL analysis of spike morphological traits and plant height in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) using a high-density SNP and SSR-based linkage map. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1617.

Zhai, H., Feng, Z., Du, X., Song, Y., Liu, X., Qi, Z., Song, L., Li, J., Li, L., Peng, H., Hu, Z., Yao, Y., Xin, M., Xiao, S., Sun, Q., Ni, Z. (2017). A novel allele of TaGW2-A1 is located in a finely mapped QTL that increases grain weight but decreases grain number in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *131*, 539–553.

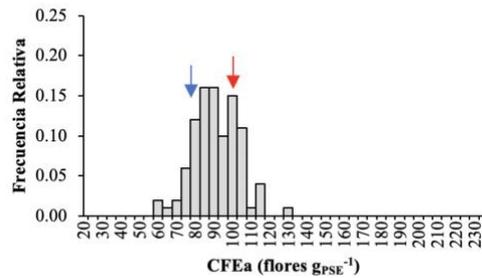
Zhou, Y., Conway, B., Miller, D., Marshall, D., Cooper, A., Murphy, P., Chao, S., Brown-Guedira, G., Costa, J. (2017). Quantitative Trait Loci Mapping for Spike Characteristics in Hexaploid Wheat. *The Plant genome*, *10*, 1-15.

CAPÍTULO VII: Material suplementario

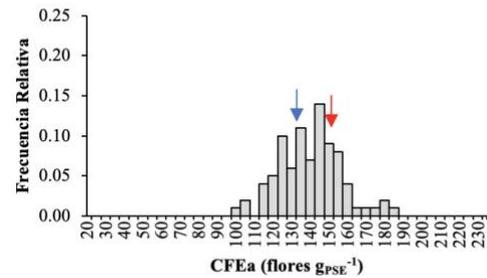
7.1. Figuras suplementarias

Figura Suplementaria S1. Distribución de Frecuencias de la población B19xB2002 para CFEa en: a) E1, b) E2, c) E3 y d) E5, para CFE en e) E2, f) E3 y g) E5, y para CFEm en h) E2, i) E3, j) E4 y k) E5. Flechas azules y rojas indican B2002 and B19, respectivamente.

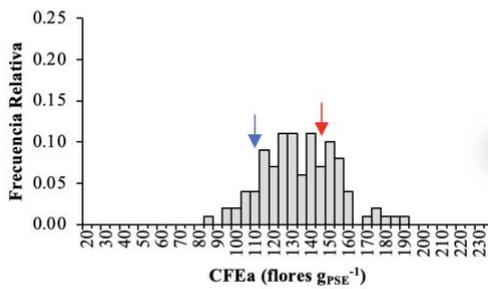
a) E1



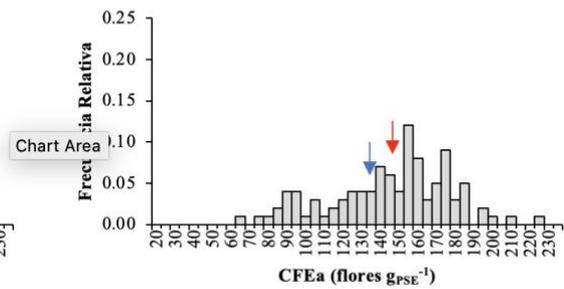
b) E2



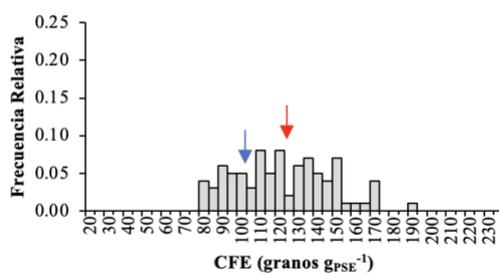
c) E3



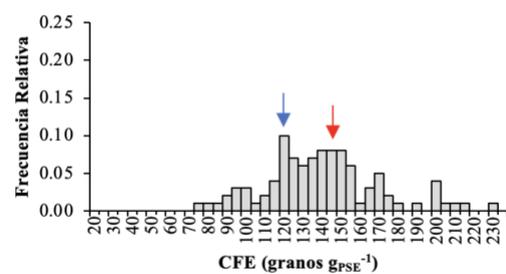
d) E5



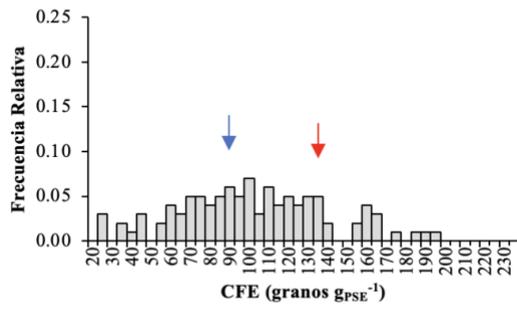
e) E2



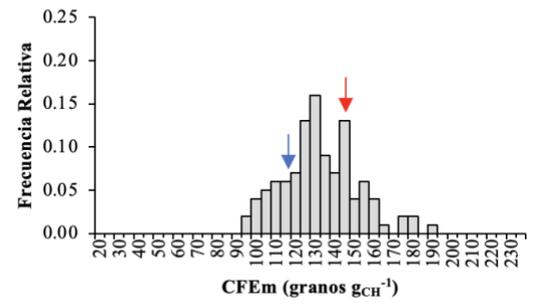
f) E3



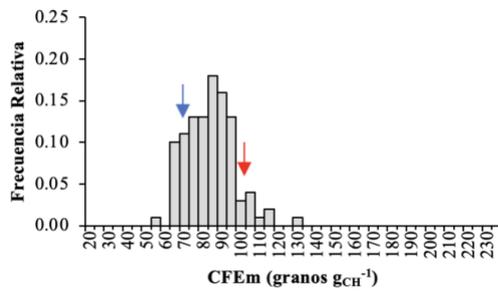
g) E5



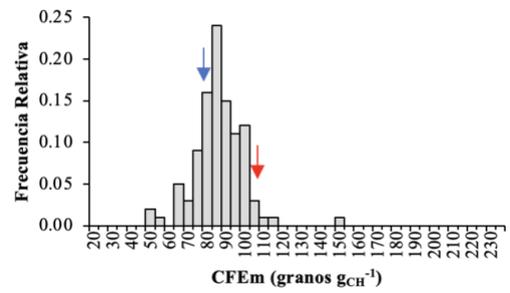
h) E2



i) E3



j) E4



k) E5

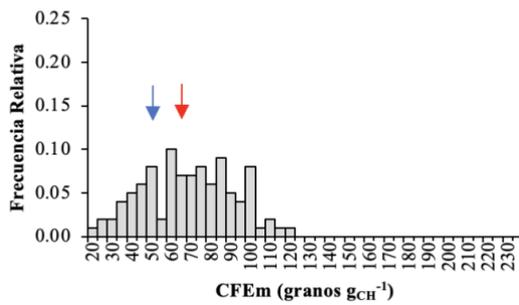
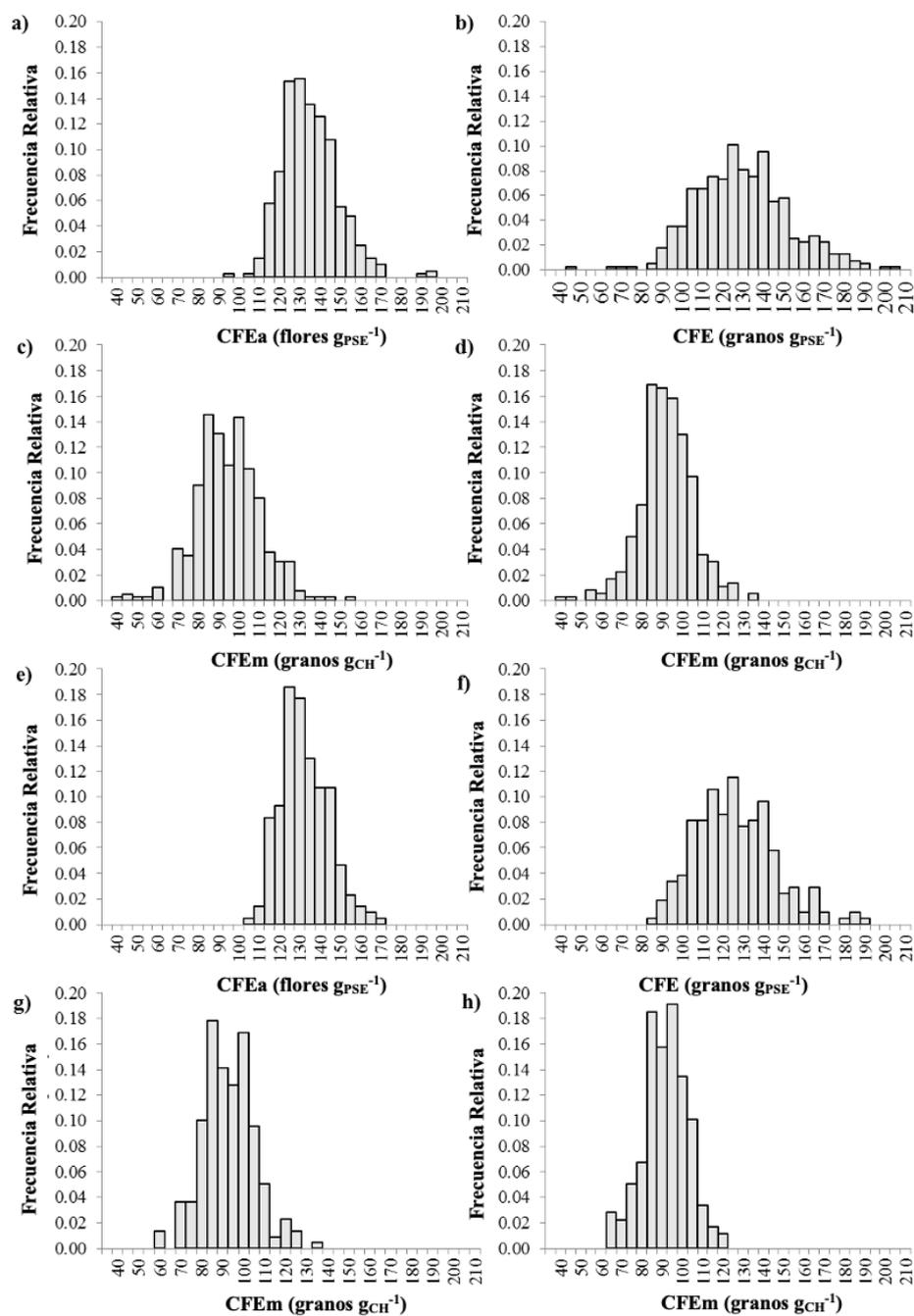


Figura Suplementaria S2. Distribución de Frecuencias de las poblaciones completas F_2 para a) CFEa, b) CFE, c) CFEm en Pobl 1 y d) CFEm en Pobl 2. Distribución de Frecuencias de las poblaciones de validación F_2 para e) CFEa, f) CFE g) CFEm en Pobl 1 y h) CFEm en Pobl 2.



7.2. Cuadros suplementarios

Los cuadros suplementarios se encuentran en el siguiente enlace de Google Drive:

https://docs.google.com/spreadsheets/d/1WdoBfitEw-3MwJBBJB1NXo12_v4w68-/edit?usp=sharing&ouid=108451725274036613349&rtpof=true&sd=true.