

Physiological traits associated with recent advances in yield of Chinese wheat

Bangwei Zhou



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència [Reconeixement- Compartigual 3.0. Espanya de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/es/).

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia [Reconocimiento - Compartigual 3.0. España de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/es/).

This doctoral thesis is licensed under the [Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0. Spain License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/es/).



**Physiological traits associated with recent
advances in yield of Chinese wheat**

**Rasgos fisiológicos asociados con los recientes
avances en el rendimiento del trigo chino**

By

Bangwei Zhou

Barcelona, Oct., 2014



Physiological traits associated with recent advances in yield of Chinese wheat

(Rasgos fisiológicos asociados con los recientes avances en el rendimiento del trigo chino)

Memoria presentada por **Bangwei Zhou** para optar al título de Doctor por la Universitat de Barcelona. Este trabajo se enmarca dentro del programa de doctorado de Biología Vegetal de la Facultad de Biología de la Universitat de Barcelona. Este trabajo se ha realizado en el Departamento de Biología Vegetal de la Facultad de Biología de la Universitat de Barcelona bajo la dirección del Dr. **Josep Lluís Araus Ortega** y la Dra. **M. Dolors Serret Molins**.

Doctorando
Bangwei Zhou

Directores de Tesis
Dr. José Luis Araus Ortega and Dra. M. Dolors Serret Molins

ACKNOWLEDGEMENTS

ACKNOWLEDGEMENTS

First and foremost, I would like to acknowledge my PhD advisors, Professors José Luis Araus and Maria Dolores Serret, for supporting me during these past three years. It was a great opportunity for me to become a Masters and then a PhD student in their team. José Luis has been a rigorous, erudite and enthusiastic advisor for the work, and also a funny friend in daily life. Dolores is a motivational, kind and helpful supervisor. I have appreciated all their contributions of ideas, time, patience and funding, which have made my PhD experiences run smoothly, this has made my time both productive and enjoyable. I thank them for giving me the great opportunity to study at the University of Barcelona.

Thanks go to Mr. Tianmin Shen who became a valuable connection between Dr. Araus and me three years ago. Moreover, during my study Mr. Tianmin Shen, who is the CEO of Henan Tianmin Seed Company, gave me the greatest help by providing economic support and research germplasm.

A good support system is important in order to perform as a foreign student, even in a good research group, especially for a student coming from such a different culture and background. I was lucky to be one of the members of the group, getting a lot of help from other members of the team, namely Jordi Bort, Abdelhalim Elazab and Rut Sánchez-Bragado, during the experimental work and further statistical analysis and paper publications. Research related to nitrogen metabolism in this dissertation would not have been possible without the help of Drs Iker Aranjuelo, from Universidad Pública de Navarra-CSIC-Gobierno de Navarra, and Álvaro Sanz-Sáez, who was a postdoctoral fellow at the University of Barcelona. I have appreciated their collaboration and kind advice during this work. During the work at the Aranjuez field station, Dr María Teresa Nieto-Taladriz made an important contribution towards carrying out the agronomical research. I am indebted to Dr Jaume Casadesús for kindly providing the BreedPix program for RGB image analysis. Thanks also go to

Omar Vergara, Salima Yousfi and Susan Mery Medina for help during the work and study.

I especially wish to express my gratitude to my parents and my wife during the long days of separation. Without their sacrifice, supporting me to stay in Spain in a peaceful manner, concentrated on the work, I would not have been able to finish my thesis.

CONTENT

CONTENT

Acknowledgements.....	1
Content.....	5
List of Tables and Figures.....	11
Resumen (Summary in castellano)	19

Chapter 1. General introduction

1. General introduction	37
1.1 Wheat production in China	37
1.2 Breeding for grain yield	39
1.3 Traits contributing to yield improvements	41
1.4 High-throughput phenotyping for grain yield loss by stress.....	44
Objectives	47

Chapter 2. Physiological traits contributing to the recent increase in yield potential of winter wheat from Henan Province, China

Abstract.....	54
1. Introduction.....	55
2. Materials and methods	58
2.1 Plant material and experimental design	58
2.2 Analysis of total N content and carbon isotope composition.....	59
2.3 Gas exchange	60
2.4 Rubisco activity	61
2.5 PEPC activity.....	61
2.6 Grain yield and yield components	62
2.7 Statistical analysis.....	62
3. Results.....	63
3.1 Grain yield and yield components	63
3.2 Grain yield and physiology traits among organs	68
3.3 Overall genotypic difference.....	73
4. Discussion.....	73
Acknowledgements.....	78
References.....	80

Chapter 3. Agronomic and physiological responses of Chinese winter wheats to high-yielding Mediterranean conditions

Abstract.....	92
---------------	----

1. Introduction.....	93
2. Materials and methods	95
2.1 Plant material and growing conditions	95
2.2 Plant sampling and grain yield components	96
2.3 Leaf stomatal conductance and chlorophyll content.....	97
2.4 Total N content and stable isotope signatures	98
2.5 Spectroradiometrical measurements and thermal image acquisition.....	99
2.6 Statistical analysis	100
3. Results.....	101
3.1 Grain yield and related agronomical components	101
3.2 Photosynthetic and transpirative status	102
3.3 N status and plant growth	108
3.4 Defining the ideotype: physiological characteristics associated with grain yield and biomass	112
4. Discussion	115
4.1 Agronomical conditions	116
4.2 Plant ideotype: yield components	118
4.3 Plant ideotype: canopy size and N utilization.....	120
4.4 Differences in water status	122
4.5 Plant height	124
4.6 Crop water status.....	126
5. Conclusions.....	127
Acknowledgements.....	128
References.....	129

Chapter 4. Wheat ears: an active carbon/nitrogen sink-source organ

Abstract.....	138
1. Introduction.....	139
2. Materials and methods	142
2.1 Growth conditions.....	142
2.2 Pre/post-anthesis ¹⁵ N labelling procedure and sampling	143
2.3 Grain yield and yield components	143
2.4 Gas exchange parameters.....	143
2.5 Rubisco isolation, fractionation and quantification	144
2.6 Nitrogen isotope composition ($\delta^{15}\text{N}$) and concentration in TOM	145
2.7 Assessment of N remobilization and uptake	146
2.8 Statistical analyses	148
3. Results.....	148
3.1 Grain yield and yield components	148
3.2 Flag leaf and ear photosynthesis and respiration	149
3.3 Nitrogen isotope composition change in TOM and Rubisco.....	151
3.4 Nitrogen concentration among organs	154
3.5 Rubisco content of the flag leaves and glumes	155

3.6 N absorption (Nabs) during post-anthesis and remobilization (Nrem) from N accumulated during pre-anthesis.....	158
4. Discussion.....	159
4.1 Biomass and grain yield.....	159
4.2 C photoassimilate contribution of the ear and the flag leaf during grain filling.....	159
4.3 Pre/post-anthesis N contribution to grain filling: N remobilization and uptake.....	160
4.4 Pre/post-anthesis N contribution to grain filling: TOM versus Rubisco.....	161
Acknowledgements.....	162
References.....	163

Chapter 5. Low-cost assessment of wheat tolerance to yellow rust through conventional RGB images

Abstract.....	174
1. Introduction.....	175
2. Materials and methods.....	178
2.1 Field plots and yellow rust stress infestation.....	178
2.2 Yellow rust impact.....	179
2.3 Photosynthetic and transpirative gas exchange and canopy temperature depression.....	179
2.4 Digital image acquisition and analysis.....	180
2.5 Statistical analyses.....	181
3. Results.....	181
3.1 Grain yield, grain yield loss and physiological traits.....	181
3.2 Colour parameter variation.....	185
3.3 Comparative performance of colour parameters in evaluating grain yield and genotypic susceptibility to rust.....	187
4. Discussion.....	189
4.1 Effect of yellow rust on grain yield and photosynthetic and transpirative parameters.....	189
4.2 Relationships of HIS colour components with genotypic performance.....	191
4.3 Relationships of CIELab and CIELuv colour components with genotypic performance.....	193
4.4 Implications for breeding.....	193
Acknowledgements.....	194
References.....	194

Chapter 6. General discussion

1. Summary of major traits contributed to increasing yield.....	203
2. A conceptual plant model / ideotype for high yielding genotypes.....	211
3. General conclusions.....	213

References (introduction and discussion) 215

LIST OF TABLES AND FIGURES

LIST OF TABLES

Chapter 2.

- Table 1. Name, year of release and pedigree of 10 Chinese winter wheat genotypes from the Henan province of China assayed at the Experimental Fields of the University of Barcelona 63
- Table 2. Mean values and sum of squares type III combined with analysis of variance for grain yield and agronomic yield components of 7 winter wheat cultivars and 3 advanced lines from Henan province, China. Abbreviations used: aboveground biomass (Biomass), harvest index (HI), and thousand kernel weight (TKW). The values are the means for each genotype of 3 replicates per block from a total of three blocks. Means followed by the same letter were not significantly different at $P = 0.05$ by the Tukey-b's test (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$) 65
- Table 3. Mean value, range, standard error, and sum of squares of different physiological parameters of 7 winter wheat cultivars and 3 advanced lines from Henan province, China. Abbreviations used: carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$), , stomatal conductance (g_s), gross carbon exchange per square meter (GCE m^{-2}), gross carbon exchange per whole organ (GCE organ^{-1}), gross carbon exchange per kernel (GCE kernel^{-1}). (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$) 66
- Table 4. Pearson correlation coefficients among grain yield and several agronomic yield components across the set of 10 Chinese winter wheat genotypes. Abbreviations used as in Table 2. (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$) 67
- Table 5. Pearson correlation coefficients among grain yield, aboveground biomass and physiological parameters. Abbreviations used as in Table 3. (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$) 69
- Table 6. Pearson correlation coefficients among grain yield, aboveground biomass and physiological parameters. Abbreviations used as in Table 3. (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$) 70
- Table 7. Stepwise analysis for grain yield for the whole set of 10 genotypes of Chinese wheat, the grain yield (GY) as the dependent variable and the independent variables as follows: $\delta^{13}\text{C}$ and N concentration of the spike, flag leaf and kernels, g_s , GCE organ^{-1} , GCE m^{-2} , Rubisco activity of the flag leaf leaf and the glumes, PEPC activity, of the flag leaf and glumes as independent variables (***, $P \leq 0.001$) 73
- Supplemental table 1. Mean values and sum of squares type III combined with analysis of variance of different physiological parameters of 7 winter wheat cultivars and 3 advanced lines from Henan province, China. Abbreviations used as in Table 3. All the parameters are the means of 3 replicates of each

genotype. Means followed by the same letter were not significantly different at $p = 0.05$ by the Turkey-b's test. (**, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$).....	86
Supplemental table 2. Mean values and sum of squares type III combined with analysis of variance of different physiological parameters of 7 winter wheat cultivars and 3 advanced lines from Henan province, China. Abbreviations used as in Table 3. All the parameters are the means of 3 replicates of each genotype. Means followed by the same letter were not significantly different at $p = 0.05$ by the Turkey-b's test. (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$).....	87

Chapter 3.

Table 1. Mean values, standard error of means (S.E.M.) and sum of squares type III combined with analysis of variance for grain yield and agronomic yield components of 11 winter wheat genotypes assayed under high-yielding Mediterranean conditions	103
Table 2. Pearson correlation coefficients of grain yield and agronomic yield components across a set of 11 winter wheat genotypes and 3 replications per genotype (D.F. = 33) assayed under high-yielding Mediterranean conditions	104
Table 3. Mean values, standard error of means (S.E.M.) and sum of squares type III combined with analysis of variance for water status physiological traits of 11 winter wheat genotypes assayed under high-yielding Mediterranean conditions.....	105
Table 4. Pearson correlation coefficients of grain yield, biomass and water status physiological traits across the 11 winter wheat genotypes and three replications per genotype ($n = 33$) assayed under high-yielding Mediterranean conditions	107
Table 5. Mean values, standard error of means (S.E.M.) and sum of squares type III combined with analysis of variance for nitrogen status physiological traits of 11 winter wheat genotypes assayed under high-yielding Mediterranean conditions.....	109
Table 6. Pearson correlation coefficients of grain yield, biomass and nitrogen status physiological traits across the 11 winter wheat genotypes and three replications per genotype ($n = 33$) assayed under high-yielding Mediterranean conditions	111
Table 7. Multiple linear regressions (stepwise) explaining grain yield and biomass variation across genotypes based on traits associated with water status (upper), N status (middle) or both (lower) as independent variables	114
Supplementary Table 1. Broad sense heritability (H) of grain yield (GY), normalized difference vegetation index (NDVI) at heading, leaf chlorophyll content (Chl) at heading and grain filling and canopy temperature (CT) during beginning of grain filling, and the correlation coefficients of the genetic correlations (r_g) between GY and the other traits of the table	134

Supplementary Table 2. Mean values and sum of squares type III combined with analysis of variance for Nitrogen Use Efficiency (NUE) and Nitrogen Uptake Efficiency (UPE) of 11 winter wheat genotypes assayed under high-yielding Mediterranean conditions	134
--	-----

Chapter 4.

Table 1. Mean values and sum of squares type III combined with analysis of variance (ANOVA) for grain yield and agronomic yield components of 5 winter wheat genotypes assayed under natural ambient conditions. The parameters recorded are: grain yield, above-ground biomass (biomass), harvest index (HI), kernels per ear (kernels), thousand kernel weight (TKW), ears per plant (ears), kernel number per plant (kernel No.), ear length and plant height. Values are the means of 3 replicates of each genotype. Means followed by the same letter are not significantly different at $P = 0.05$ by the Tukey's-b test. (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$).....	149
Table 2. Mean values combined with analysis of variance for physiological traits during pre-anthesis (Pre) and two weeks post-anthesis (Post) for 5 winter wheat genotypes assayed under natural ambient conditions. The parameters recorded are: flag leaf net CO ₂ assimilation rate per unit area (flag Pn m ⁻²), Pn per total flag leaf (Pn flag ⁻¹), ear gross CO ₂ assimilation rate per unit area (ear GAR m ⁻²), Pn and dark respiration rate per total ear (Pn ear ⁻¹ , Rdark ear ⁻¹). Values are the means of three replicates (6 pots) of each genotype. Means followed by the same letter are not significantly different at $P = 0.05$ by the Tukey's-b test. (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$).....	150
Table 3. Mean values combined with analysis of variance for nitrogen isotope composition ($\delta^{15}\text{N}$) of total organic matter (TOM) and Rubisco for five genotypes of winter wheat labeled with ¹⁵ N from sowing to anthesis (pre-anthesis labeled plants) and ¹⁵ N labeling from anthesis to maturity (post-anthesis labeled plants). The specific parameters are: $\delta^{15}\text{N}$ of ear TOM, flag leaf TOM, ear Rubisco and flag leaf Rubisco (Pre, sampled in pre-anthesis); $\delta^{15}\text{N}$ of ear TOM, flag leaf TOM, ear Rubisco and flag leaf Rubisco (Post, sampled in two weeks post-anthesis); $\delta^{15}\text{N}$ of kernel (sampled in maturity). Values are the means of 3 replicates (6 pots) for each genotype. (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$).....	153
Table 4. Mean values combined with analysis of variance for: Rubisco content of flag leaves and glumes, and nitrogen content per unit total organic matter (N,%) of flag leaves, ears and mature kernels (Pre, sampled at pre-anthesis; Post, sampled at two weeks post-anthesis); nitrogen use efficiency (NUE), nitrogen absorption (N _{abs}) from nitrogen uptake in Post, and nitrogen remobilization (N _{rem}) from nitrogen accumulated in Pre for ears and flag leaves from pre-anthesis to two weeks post-anthesis; and total kernel nitrogen N _{rem} derived from the whole pre-anthesis accumulation and N _{abs} for the whole post-anthesis for five winter wheats under natural ambient	

conditions. Values are the means of 3 replicates (6 pots) for each genotype. (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$)	156
Supplementary table 1. Pearson correlation coefficients of grain yield, above ground biomass (biomass), harvest index (HI), kernels per ear, thousand kernel weight (TKW), ears per plant, kernels per plant, ear length and plant height across the set of 5 winter wheat genotypes assayed under natural ambient conditions. (n = 15; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$)	167
Supplementary Table 2. Relationship of grain yield, nitrogen use efficiency (NUE), and physiological traits during pre-anthesis (Pre, heading) and post anthesis (Post, two weeks after anthesis) with Rubisco content of glumes and flag leaves, N content (N, %) of ears, flag leaves and kernels, N isotope composition ($\delta^{15}\text{N}$) of ear and flag leaf total organic matter (TOM), Rubisco and mature kernel dry matter for 5 winter wheat genotypes labeled by ^{15}N from sowing to anthesis assayed under natural ambient conditions. (n = 15; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$)	168
Supplementary table 3. Pearson correlation coefficients of grain yield, nitrogen absorption (N_{abs}) from post-anthesis (Post) N uptake, remobilized (N_{rem}) from pre-anthesis (Pre) N assimilate of ear and flag leaf, and N_{abs} and N_{rem} accumulated in mature kernel for 5 winter wheat genotypes labeled with ^{15}N , which were assayed from sowing to anthesis under natural ambient conditions. (n = 15; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$)	169

Chapter 5.

Table 1. Mean value and sum of squares combined with analysis of variance for a set of agronomical and physiological traits measured in a set of twelve wheat genotypes suffering yellow rust infection during grain filling in the cropping season 2012-2013	184
Table 2. Pearson correlation coefficients among grain yield for the rust-infected trial in the 2012-2013 crop season (GY rust infected), grain yield for the same genotypes without stress in the 2011-2012 crop season (GY normal), grain yield loss index (GYLI), and the different physiological traits	185
Table 3. Mean value, standard error and sum of square type (III) for the different color parameters evaluated on the bare soil as well in the canopy at jointing, heading and during grain filling when rust infestation was already present	186
Table 4. Pearson correlation coefficients of the relationships of grain yield (GY) and grain yield loss index (GYLI) against leaf chlorophyll content (Chl) and different color parameters derived from RGB images taken at jointing, heading and two weeks after anthesis, across the set of 12 wheat genotype and 3 replicates per genotype	189
Table S1. Mean values of color parameters of twelve different wheat genotypes during grain filling infected by yellow rust under field conditions	199

LIST OF FIGURES

Chapter 1.

- Fig. 1 Winter wheat grain yield from 1980 to 2012 in China..... 39
 Fig. 2 Winter wheat total production from 1980 to 2012 in China..... 39
 Fig. 3 Winter wheat harvest area from 1980 to 2012 in China..... 39

Chapter 2.

- Fig. 1. Linear regression on year of release for grain yield (A), harvest index (HI) (B), aboveground biomass (C), kernel isotope composition (D), gross carbon exchange per whole organ (GCE/organ) of spikes and flag leaves (E), and gross carbon exchange per kernel of flag leaves and spikes (F) for the set of 10 Chinese wheat genotypes from Henan province, China, released from 1995 to 2012. The genotypes released in 2012 correspond to advanced lines. Determination coefficient (r^2) and probabilities are given. (ns, no significant; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$)..... 71

Chapter 3.

- Fig. 1 Principal component analysis of grain yield, biomass and the different physiological traits related to the photosynthetic, transpirative and nitrogen status of the crop were set for 11 winter wheat genotypes grown under high-yielding Mediterranean conditions..... 113

Chapter 4.

- Figure 1. Linear correlations between grain yield and the pre-anthesis ear gross net assimilation rate per unit area (GAR m^{-2}) (A), and the two weeks post-anthesis net assimilation rate per whole ear (Pn ear^{-1})(B) for Chinese wheat grown in a natural ambient environment. The three replicates and 5 genotypes are plotted together. Determination coefficient (r) and probabilities are given. *, $P < 0.05$ 151
- Figure 2. Linear correlations between grain yield and glume Rubisco $\delta^{15}\text{N}$ (A), grain yield and glume Rubisco content (B), nitrogen use efficiency (NUE) and flag leaf Rubisco content $\delta^{15}\text{N}$ (C) and NUE and glume Rubisco content (D) in the pre-anthesis ^{15}N labeling stage and the two weeks post-anthesis ^{15}N labeling stage for Chinese wheat grown in a natural ambient environment. The three replicates and the 5 genotypes are plotted together. Determination coefficient (r) and probabilities are given. ns, not significant. *, $P < 0.05$. 154
- Figure 3. Linear correlations between the flag leaf net photosynthesis rate per unit area (Pn) and the flag leaf Rubisco content (A), and the ear gross assimilation

	rate (GAR) and glume Rubisco content (B) in pre-anthesis and two weeks post-anthesis for Chinese wheat grown in a natural ambient environment. The three replicates and the 5 genotypes are plotted together. Determination coefficient (r) and probabilities are given. **, $P < 0.01$	157
Figure 4.	Linear regression between the kernel nitrogen content proportion and the glume Rubisco content in the pre-anthesis and two weeks post-anthesis stages for Chinese wheat grown in a natural ambient environment. The three replicates and the 5 genotypes are plotted together. Determination coefficient (r) and probabilities are given. ns, not significant. **, $P < 0.01$	158
Chapter 5.		
Figure 1.	RGB camera images (upper) from bare soil (left), wheat canopy at jointing (center) and rust-infected wheat canopy at grain filling (right, two weeks after anthesis), and the corresponding out-put images from the Breedpix 1.0 software to mark the Green fraction (GF) (middle) and Greener fraction (GGF) (bottom)	183
Figure 2.	Principal component analysis (PCA) of color parameters and grain yield (GY) at jointing (A), heading (B) and grain filling (C) for 12 wheat genotypes suffering post-anthesis yellow rust infection.....	188
Figure S1.	Water inputs of daily mean rainfall (rainfall), support irrigation (irrigation), and daily mean air temperature (temp.) and relative humidity (RH) from 1 st of March to 1 st of June during the growing season 2011-2012 (A) and 2012-2013(B) at the Aranjuez Experimental Station (Madrid Province, Spain)	200

Chapter 6.

Fig 1.	A conceptual platform integrated by phenotyping traits and tools contributing to increasing yield in wheat. Traits are categorized as related to water including carbon and oxygen isotope composition ($\delta^{13}C$ and $\delta^{18}O$), stomatal conductance (g_s), transpiration rate (E) and canopy temperature depression (CT), and related to nitrogen including nitrogen use efficiency (NUE), nitrogen isotope composition ($\delta^{15}N$), nitrogen content (N%), net photosynthesis (P_n), green biomass (evaluated remotely using for example a spectroradiometrical or RGB image-derived Vegetation Index), chlorophyll content (Chl) and Ribulose biphosphate carboxylase (Rubisco) content	204
Fig. 2.	A conceptual ideotype for designing crosses aimed at increasing yield potential and stability of winter wheats in Henan. All the traits were categorized as either belonging to sources or sinks, and either preferably assessed at pre-anthesis or post-anthesis, or both (*). Figure redrawn from Reynolds et al. (2009a; 2011).....	212

SUMMARY

RESUMEN (SUMMARY IN CASTELLANO)

China representa alrededor del 20% de la población mundial y esta proporción se mantendrá similar en las próximas décadas, mientras que una mejora en la dieta está previsto que aumente el consumo de trigo (*Triticum aestivum* L.). Aunque los rendimientos de trigo en la China han incrementado en las últimas tres décadas, los retos de la alimentación de casi 1,4 millones de personas continuarán siendo significativos en las próximas décadas. Al mismo tiempo, las preocupaciones por los efectos en el medio ambiente de la agricultura intensiva están en aumento, asociado a la baja eficiencia en el uso de insumos como fertilizantes y agua, mientras que la superficie de cultivo se ha estancado y la tendencia es a disminuir. El aumento de la producción de trigo a través de un mayor rendimiento de grano por unidad de área se ha convertido en uno de los objetivos prioritarios de la mejora del trigo en China.

La región más productiva de trigo en China se encuentra en el río Amarillo y la zona agronómica de trigo de invierno del Valle de Huai (YHVWWZ) de las siglas en inglés Yellow River and Huai Valleys Winter Wheat Zone), donde la provincia de Henan representa el primer productor de trigo de invierno de China con una rotación de cultivos trigo-maíz. La producción ha aumentado desde menos de 2 Mg ha⁻¹ en la década de 1980 a aproximadamente 5 Mg ha⁻¹ en 2013 (FAO, 2014). Esto ha sido el resultado de un programa de mejora de cultivos, con la introducción de variedades más productivas, junto con un aumento del uso de fertilizantes y riego. Sin embargo, el lento aumento de la ganancia genética junto la progresiva subida de los costos de los fertilizantes y de la concienciación en sus efectos nocivos para el medio ambiente ha comportado que en la actualidad la producción de grano se encuentra en una situación de "cuello de botella". Por otra parte, la inestabilidad ambiental asociada al cambio climático hace que la productividad agrícola sea menos predecible, lo cual pone de relieve la urgencia de desarrollar genotipos que exhiban una mayor eficiencia en el uso de recursos. Además, la roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) sigue siendo el estrés biótico que más limita la producción de trigo en YHVWWZ.

Todos los considerandos arriba indicados ponen de relieve la urgencia de cambiar las estrategias de mejoramiento para desarrollar cultivares más productivos y con una mayor eficiencia en el uso de insumos. En las últimas 3 décadas, las ganancias genéticas medias anuales de trigos en las provincias de Henan y Shandong oscilaron entre 32,07 hasta 72,11 kg ha⁻¹ por año, con el aumento más significativo a principios de 1980, en gran parte debido a la utilización de genes de enanismo y la translocación 1BL / 1RS (Zhou et al 2007; Zheng et al 2011; Xiao et al 2012). Como consecuencia de una menor altura de la planta, el índice de cosecha (HI) ha aumentado, lo que ha contribuido a elevar el rendimiento potencial (Zhou et al., 2007) después de la "Revolución Verde". En relación con lo anterior, el aumento de los rendimientos de grano durante las últimas décadas se han asociado principalmente con un mayor número de granos por unidad de superficie (Xiao et al. 2012) como resultado de los aumentos en el número de granos por espiga.

Sin embargo, a pesar del elevado potencial de rendimiento alcanzado por los pasados programas de mejora, uno de los problemas que se plantea es cómo hacer que este mayor rendimiento potencial se traduzca en una mayor productividad en las condiciones de cultivo del agricultor. Incluso en los últimos años, con el objetivo de "romper el récord de rendimiento potencial", la mayoría de los programas de mejora de trigo en estas regiones de la China se han llevado a cabo seleccionando en condiciones óptimas (es decir en ausencia de estrés). Como consecuencia, el rendimiento de grano de los genotipos modernos chinos fácilmente puede verse afectado cuando se cultivan en condiciones agronómicas o ambientales que no son óptimas. Como se indica más arriba una de las razones es que casi todos los cultivares recientemente liberados han sido desarrollados para un mayor rendimiento en condiciones agronómicas favorables, por lo que la adaptación a ambientes de cultivos menos favorables se ha descuidado (Zheng et al. 2011).

Los mejoradores chinos se han basado en su experiencia para seleccionar en las fases iniciales de la mejora de manera empírica "ideotipos" (individuos con unas

características morfológicas y fenológicas ideales), dejando para las generaciones posteriores los ensayos de campo donde se mide el rendimiento. Sin embargo esta estrategia de mejora del trigo en la China podrá hacerse más eficiente simplemente si se complementara con la selección de características de la planta consideradas como rasgos positivos por la comunidad internacional de mejoradores.

La tasa de fotosíntesis neta (P_n) y la conductancia estomática (g_s) parecen estar involucrados en el progreso genético en rendimiento potencial de los trigos chinos (Xiao et al. 2012). Sin embargo, la viabilidad genética en P_n pueden estar también asociada a otros rasgos secundarios, como el contenido de N, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa / oxigenasa (Rubisco) la actividad, el área foliar (Araus et al 1993; Parry et al 2011). De hecho la Rubisco, que es la proteína más abundante en la biosfera, se ha relacionado directamente con la capacidad fotosintética y almacenamiento de N en las hojas (Parry et al 2011; Aranjuelo et al 2011). Sin embargo, la contribución de la espiga como órgano fotosintético y fuente de nitrógeno durante el llenado del grano no se ha considerado en su real magnitud hasta recientemente. Esta tesis ha investigado el papel fotosintético y como fuente de nitrógeno de la espiga en la colección de trigos de Henan.

La eficiencia del uso del nitrógeno (NUE) es sólo de un 15% para el trigo en sistema de rotación maíz-trigo de la provincia de Henan, lo que es claramente menor que la eficiencia promedio mundial, situada en el 33% (Ma et al. 2008). Una de las razones de este bajo NUE puede ser las altas tasas de aplicación de N (más de 300 kg N ha⁻¹ para el trigo de invierno), muy superiores a las necesidades de N de ambas especies en las condiciones de cultivo chinas, lo que inevitablemente comporta grandes pérdidas de N y como resultado contaminación. El análisis de la composición de isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) en su abundancia natural en la materia seca de la planta ha demostrado ser un método útil para evaluar NUE y detectar el estado general del metabolismo de N durante las diferentes etapas de crecimiento de la planta. Por otro lado, el uso del marcaje con ^{15}N es una buena alternativa para estimar de la absorción

de N, la acumulación y removilización del N desde los órganos fotosintéticos y de almacenaje a los órganos sumidero. Aunque el marcaje con ^{15}N permite evaluar NUE de una manera menos sesgada y más precisa que mediante el análisis de $\delta^{15}\text{N}$ en su abundancia natural (Kichey et al. 2007; Masclaux-Daubresse et al 2008) los requerimientos metodológicos y de coste asociados a la primera alternativa lo hacen frecuentemente inviable. Esta tesis ha investigado las dos opciones: el empleo de $\delta^{15}\text{N}$ en abundancia natural y como marcaje para evaluar el papel de la hoja y de la espiga aportando N a los granos.

La composición isotópica del carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en la materia seca de la planta proporciona información acerca de la eficiencia de transpiración a largo plazo de las plantas, que se ha propuesto como un criterio de selección de alta eficiencia de uso del agua (EUA) para la mejora de trigo (Araus et al 2003; Xu et al 2007). Sin embargo, $\delta^{13}\text{C}$ puede estar afectado no solamente por la conductancia estomática sino también por la capacidad fotosintética intrínseca. Por el contrario, la composición de isótopos estables de oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) proporciona un enfoque más preciso para evaluar el estado hídrico, ya que refleja directamente las condiciones de conductancia estomática y la transpiración. Por lo tanto, $\delta^{18}\text{O}$ ha sido propuesta como un método para medir la transpiración y el uso del agua en diferentes especies cultivadas (Barbour y Farquhar 2000; Cabrera-Bosquet et al 2011).

Aumentar el rendimiento en condiciones de estrés sin penalizar el rendimiento potencial es un enfoque importante a explorar en la mejora de los trigos Chinos. Para satisfacer estas necesidades es necesario fenotipar gran número de líneas de forma rápida y precisa, e identificar la mejor progenie, tanto en condiciones óptimas como bajo estreses abióticos y bióticos, utilizando preferentemente métodos rápidos y baratos de alto rendimiento (Cabrera-Bosquet et al. 2012). Las plataformas de fenotipado de alto rendimiento podrán ser particularmente útiles para la realización de mediciones detalladas de las características de las plantas que proporcionen colectivamente estimaciones fiables de los rasgos fenotípicos relevantes en mejora

(Cabrera-Bosquet et al. 2012). Por lo tanto, es necesario poner a punto métodos eficaces y asequibles para evaluar tanto el efecto de estreses abióticos, como la sequía, como bióticos. En este último caso destaca la roya amarilla que es uno de los estreses bióticos que más perjudican al producción de trigo en la China.

Los objetivos de este trabajo de Tesis Doctoral fueron (i) identificar la combinación de rasgos agronómicos, morfológicos y fisiológicos que han contribuido a las mejoras sustanciales en el potencial de rendimiento de los trigos de invierno chinos recientemente liberados, (ii) que rasgos contribuyen a un mejor comportamiento de dichos trigos en condiciones ambientales subóptimas (concretamente de estrés hídrico), y poner a punto nuevas herramientas fenotípicas que contribuyan a acelerar el avance genético de los trigos chinos. Los objetivos específicos serían:

- I. Determinar la combinación de características agronómicas y fisiológicas que contribuyeron a elevar el potencial de rendimiento de los trigos de invierno liberados de la provincia china de Henan, durante las últimas décadas.
- II. Evaluar los rasgos agronómicos y fisiológicos involucrados en la ejecución de estos genotipos en las condiciones subóptimas características de las condiciones de riego mediterráneas de España.
- III. Determinar el papel de la espiga y la hoja bandera como principales contribuyentes a la C y la acumulación de N en el grano durante la etapa reproductiva, y para evaluar la contribución de N asimilado en pre-antesis para el llenado del grano.
- IV. Evaluar el uso potencial de las imágenes digitales de color rojo / verde / azul (RGB) como un bajo costo y un enfoque de alto rendimiento para determinar la tolerancia del trigo genotípica a la roya amarilla en condiciones de campo.

La presente tesis se divide en seis capítulos. Estos capítulos incluyen una introducción general (Capítulo 1), cuatro artículos con resultados experimentales (Capítulos 2, 3, 4 y 5) y una discusión global (Capítulo 6), seguido de las conclusiones de la tesis. El primer capítulo experimental se basa en un artículo ya publicado (Capítulo 1) y los tres siguientes en artículos enviados a evaluar en revistas del SCI (Capítulos 3, 4 y 5).

En el Capítulo 1, Introducción General, se pretende explicar la producción de trigo y la tendencia de la producción de grano durante los últimos 30 años, con un enfoque en las zonas de alta productividad de la China, frente a los factores limitantes presentes y futuros. También se discuten los rasgos fisiológicos secundarios que pueden ser útiles para contribuir a aumentar el potencial de rendimiento en los programas de mejoramiento chinos a la vez que permiten una mejor respuesta frente a condiciones subóptimas.

En el Capítulo 2, se las características asociadas con el rendimiento potencial en una colección de 10 genotipos de trigo de invierno de Henan (incluidos los cultivares liberados en los últimos 20 años y líneas avanzadas). Las plantas crecieron en condiciones de fertirrigación óptimas mediante riego por goteo de plantas crecidas en contenedores en el exterior en los Campos Experimentales de la Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Se estudió durante la primera parte del llenado del grano un conjunto de rasgos agronómicos y fisiológicos responsables del aumento en rendimiento potencial. Las características agronómicas incluyeron el índice de cosecha (HI), la biomasa por área, densidad de espigas por unidad de superficie, número de granos por unidad de área, longitud de las espigas y granos por espiga. Entre los rasgos fisiológicos se incluyeron la tasa de fotosíntesis por unidad de superficie foliar y total del órgano, tanto de la hoja bandera como de la espiga, $\delta^{13}\text{C}$ y la concentración de N de la hoja bandera, espiga y grano. Además se midieron la actividad Rubisco y Fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilasa de la gluma y de la hoja bandera.

En el Capítulo 3, con el fin de identificar qué características agronómicas y fisiológicas y agronómicas pueden conferir mejor respuesta de los trigos chinos frente a condiciones ambientales de estrés moderado. A tal efecto 9 variedades chinas, junto con dos españolas se cultivaron bajo condiciones subóptimas representadas por condiciones de riego de alto rendimiento en condiciones Mediterráneas. Los ensayos se realizaron en la estación del INIA de Colmenar de Oreja, Provincia de Madrid, España). Se evaluaron dos categorías de rasgos fisiológicos durante el llenado del grano: (1) los que informan sobre el estado hídrico del cultivo (incluyendo la temperatura del dosel, gs de hoja bandera, $\delta^{13}\text{C}$ de hoja bandera, espiga y granos maduros y $\delta^{18}\text{O}$ de granos) y (2) caracteres asociados con el metabolismo del nitrógeno (incluyendo el contenido de N, $\delta^{15}\text{N}$ de la hoja bandera, espigas y los granos maduros, contenido de clorofila en diferentes las hojas e índices de vegetación verde).

En el Capítulo 4, se estudió el papel de la espiga y de la hoja bandera como principales contribuyentes de C y de N en granos. Cinco trigos chinos fueron cultivados en macetas con riego por goteo bajo condiciones ambientales naturales en los Campos Experimental de la Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. El papel de los órganos fotosintéticos que suministran C durante el llenado del grano fueron estudiados a través de mediciones in vivo de fotosíntesis de las espigas y de la hoja bandera. La acumulación de N se evaluó mediante el marcaje con ^{15}N desde la siembra hasta la antesis (mediciones pre-antesis) y desde la antesis hasta la madurez (mediciones post-antesis), respectivamente. La contribución pre- y postanthesis de N a los granos se cuantificó mediante el análisis de la materia orgánica total, su contenido en nitrógeno total, Rubisco y $\delta^{15}\text{N}$ en la hoja bandera, glumas y granos en plantas con distintos marcajes pre y post-antesis de ^{15}N .

En el Capítulo 5, se evaluó el uso potencial de las imágenes digitales RGB como herramienta de bajo coste y alta capacidad para evaluar la tolerancia genotípica de trigo a la roya amarilla en condiciones de campo. Los ensayos se realizaron en la

misma estación que en el Capítulo 2. Los diferentes componentes de color de las imágenes se relacionan con el rendimiento de grano total, la pérdida de rendimiento (relativa al año anterior, donde no hubo ataque de roya) y varios parámetros ecofisiológicos evaluados en la hoja (P_n , g_s , E y Chl) y los niveles de depresión de temperatura del dosel (CTD).

El Capítulo 6, desarrolla una discusión general que engloba los resultados de los capítulos experimentales anteriores. Se discute el “ideotipo” conceptual adecuado para aumentar el potencial de rendimiento y la estabilidad de los trigos de invierno. A tal efecto se han incluido en el ideotipo los caracteres fisiológicos y agronómicos estudiados, tanto referentes a estatus hídrico y metabolismo nitrogenado, como de morfología de la planta, y componentes agronómicos del rendimiento.

Los resultados mostraron que el incremento en potencial de rendimiento fue asociado a un mayor HI, número de granos unidad de área y biomasa aérea, mientras que el peso de mil granos estuvo menos afectado (Capítulo 2). El HI y biomasa aérea mostraron una tendencia creciente con el año de la liberación, lo que indica que estos dos componentes del rendimiento fueron los rasgos más importantes que contribuyeron a elevar el potencial de rendimiento. Un incremento en el número de granos por metro cuadrado y por espiga parece ser la causa de la mejora del rendimiento HI y grano. Aunque los mejoradores chinos han alcanzado un logro importante en su estrategia de aumentar HI, será importante para futuros avances de la mejora aumentar la producción de biomasa y mantener o incluso aumentar la HI. Las líneas avanzadas ensayadas en el presente estudio mostraron mayor HI que los cultivares actuales, lo que sugiere que un incremento adicional en la partición de asimilados hacia los granos es aún posible.

Sin embargo, cuando estos genotipos se evaluaron bajo condiciones mediterráneas de riego, que representan un estrés hídrico moderado, los rendimientos alcanzados fueron muy inferiores a los rendimientos potenciales y también menores que los

testigos españoles (Capítulo 3). En este caso, el rendimiento de grano se correlacionó positivamente con la biomasa, la altura de planta, número de espigas por unidad de área, y en menor medida con el número de granos por unidad de área, y negativamente con el peso espiga y en menor medida con el peso de mil granos (TKW). Los programas de mejora para los trigos de Henan han puesto énfasis en ideotipos con una capacidad de ahijamiento y altura moderada, fuertes tallos (es decir, resistencia al encamado) y espigas grandes. Sin embargo, en contraste con el alto potencial de rendimiento, el rendimiento en condiciones de estrés hídrico moderado estuvo asociado con una mayor biomasa verde, plantas más altas y con más tallos fértiles por planta, y en menor medida con mayores HI y número de granos por unidad de superficie. Los genotipos con grandes espigas, pero bajo ahijamiento poseen alto potencial de rendimiento en condiciones agronómicas óptimas (propiciadas por un aporte no limitante de fertilizantes y agua), pero estos genotipos no estaban bien adaptados a las condiciones mediterráneas de regadío, como se concluye por su menor rendimiento comparado con los alcanzados en las condiciones óptimas de China (o las inferidas en el ensayo del Capítulo 2) y con los testigos españoles. El ideotipo asociado a una mejor adaptación de los genotipos chinos a condiciones subóptimas se caracterizaron por una mayor capacidad de ahijamiento, mayor altura y espigas menores, más cerca a la de los ideotipos de los controles españoles.

Por otra parte, la alta variabilidad genotípica de la resistencia a la roya amarilla de los trigos chinos, incluyó algunos de genotipos chinos que se mostraron más resistentes a la roya amarilla de los controles españoles. Sin embargo la mayoría de los genotipos chinos exhibieron una gran susceptibilidad frente a la roya amarilla (Capítulo 5). La mayoría de los genotipos de alto rendimiento están sólo moderadamente adaptados a condiciones de estrés a la vez que son altamente susceptibles a la roya amarilla, lo que indica que la adaptación al estrés no ha sido una prioridad en la mejora china reciente.

En esta tesis, se ha evaluado el comportamiento de diversos rasgos fisiológicos asociados con estado hídrico en relación con el rendimiento potencial y respuesta

frente al estrés moderado. El rendimiento de grano estaba correlacionado positivamente con la $\delta^{13}\text{C}$ de la hoja bandera, espiga y grano en las condiciones óptimas, pero no correlaciona con g_s hoja bandera (Capítulo 2). Un $\delta^{13}\text{C}$ mayor parece estar implicado en el aumento de los avances potenciales de rendimiento, lo que sugiere que una mejora progresiva de la eficiencia en uso del agua constitutiva no se asocia con una menor conductancia estomálica en los genotipos más recientes. Por el contrario, el rendimiento del grano se correlacionó positivamente con el g_s y $\delta^{18}\text{O}$ de la hoja bandera, y se correlacionó negativamente con la temperatura de la cubierta y $\delta^{13}\text{C}$ de espiga y grano en las condiciones del campo de estrés moderado (Capítulo 3). Los dos genotipos "Zhoumai" tienden a exhibir mayores g_s y temperaturas más bajas durante el llenado del grano, junto con un $\delta^{13}\text{C}$ de grano menor que el resto de los trigos chinos ensayados, lo que indican la existencia de diferencias constitutivas en la apertura estomálica entre los trigos de Henan. Los genotipos con una apertura estomálica superior, ya sea de índole constitutiva o como una respuesta al estrés hídrico, parecen tener un uso más eficiente del agua en términos de la cantidad de agua transpirada, que puede resultar en un rendimiento de grano superior bajo condiciones óptimas y estrés hídrico moderado. Por otra parte, un $\delta^{18}\text{O}$ más alto puede ser la consecuencia de utilizar agua más enriquecida en ^{18}O (es decir, con mayor $\delta^{18}\text{O}$) durante el llenado del grano, lo que sugiere que las plantas son capaces de absorber agua tarde en el ciclo de cultivo, cuando la temperatura aumenta claramente, que puede causar la absorción de agua enriquecida en $\delta^{18}\text{O}$ enriquecido. Resumiendo, las características morfofisiológicas relacionadas con un mejor rendimiento bajo altas condiciones mediterráneas consisten en una biomasa aérea verde mayor, sobre todo durante la etapa reproductiva, junto con un mejor estado hídrico (altas g_s y menor temperatura de dosel y $\delta^{13}\text{C}$), lo que sugiere una mayor capacidad para captar agua durante el llenado del grano ($\delta^{18}\text{O}$ más alto).

Los cultivares chinos modernos responden más al N que los cultivares más antiguos, lo que se traduce en mayores beneficios y mayor rentabilidad. Mejorar la NUE a través de la optimización del balance fuente/sumidero entre la hoja bandera, las

glumas y los granos parece fundamental para aumentar la acumulación de N en los granos y maximizar la productividad (Capítulos 2, 3 y 4). En condiciones de potencial de rendimiento la concentración de N de los granos estuvo positivamente relacionado con el rendimiento, mientras que en condiciones de estrés hídrico moderado el rendimiento se asoció negativamente con la concentración de N del grano. Por otra parte, en condiciones óptimas el rendimiento de grano se correlacionó negativamente con la concentración de N de la espiga dos semanas después de la floración, mientras que esta correlación no se detectó en condiciones de estrés hídrico moderado de campo. Por el contrario, el rendimiento de grano se correlacionó positivamente con la concentración de N de las hojas bandera tanto en condiciones óptimas (en maceta) como en condiciones de estrés moderado de campo.

El $\delta^{15}\text{N}$ en abundancia natural se demostró como un criterio para la selección genotípica (Capítulo 3 y Capítulo 4). El $\delta^{15}\text{N}$ de espiga y de los granos exhibieron diferencias genotípicas altamente significativas y se correlacionaron negativamente con el rendimiento de grano, lo que sugiere que una mejor NUE estaba involucrada en mantener el rendimiento de grano en condiciones de estrés hídrico moderado. La espiga aparece como uno de los órganos más importantes contribuyendo con C y N durante el llenado del grano (Capítulo 2 y 4). Sin embargo, el avance genético de los genotipos chinos más reciente no parece estar relacionado con los cambios en tasas de fotosíntesis por unidad de superficie tanto de la hoja bandera como la espiga. La única correlación contra el rendimiento fue la alcanzada por la fotosíntesis total de la espiga, lo que apoya indirectamente la idea de que en condiciones de rendimiento potencial la espiga contribuyó más que la hoja bandera aportando C a los granos formación. Por otro lado, la removilización N fue mayor en las espigas que en las hojas bandera durante la etapa de post-antesis, a pesar de las espigas y hojas bandera mostraron tasas de absorción de N similares. La capacidad de removilización de N de las espigas fue mayor que la de las hojas bandera. Estos hallazgos muestran que espiga contribuye a sostener la demanda N de los granos de manera muy importante. Por lo tanto, nuestro estudio pone de relieve el papel de la espiga como una fuente de C y un contribuidor

de N, especialmente en genotipos de alto rendimiento. De cara a la mejora genética tanto para incrementar el rendimiento potencial como la adaptación a condiciones de estrés, se debe asignar a las espigas un papel comparable o superior al de otros órganos fotosintéticos.

En esta tesis, cambios en el contenido y la actividad Rubisco de la hoja bandera y de la gluma no parecen haber contribuido a aumentar el potencial de rendimiento de la hoja bandera y gluma (Capítulo 2 y Capítulo 4). La Rubisco, en particular de la espiga, parece jugar múltiples funciones contribuyendo al C y N de los granos. Por un lado el contenido de Rubisco de la espiga correlacionó negativamente con la tasa de fotosíntesis bruta por unidad de área medida a las dos semanas después de la antesis. Estos resultados indicaron que las hojas bandera eran capaces de fijar más CO₂ con menos contenido de Rubisco (Pn / Rubisco) que la espiga. Los resultados sugieren que la Rubisco en exceso de la gluma se degradará para jugar un papel principal suministrando N a los granos. Durante este proceso de acumulación, hoja bandera y $\delta^{15}\text{N}$ gluma revelaron diferentes patrones en los genotipos de alto y bajo rendimiento de grano. En los genotipos de bajo rendimiento, el N procedente de la Rubisco de la hoja bandera representaba una fuente importante de N, mientras que en los de alto rendimiento el N proveniente de la Rubisco de la espiga parece tener un papel más importante.

Para aumentar el rendimiento de grano y la adaptación al estrés, las futuras estrategias de mejoramiento de trigos chinos deben trabajar en diferentes direcciones. Éstas incluyen, junto a una explotación novedosa de la variabilidad genética, una definición adecuada del ideotipo que se busca, lo que implica la incorporación de posibles caracteres secundarios. Los ideotipos Chinos adaptados a las condiciones subóptimas eran aquellos genotipos (como la serie "Zhoumai" serie) más similares a los ideotipos de alto rendimiento de los genotipos españoles: una elevada capacidad de ahijamiento y TKW, espigas menores, junto con valores mayores de $\delta^{18}\text{O}$ y menores de $\delta^{13}\text{C}$ de los granos, y una altura de la planta, HI y eficiencia de utilización

de N moderados, Por el otro lado el aumentando del potencial de rendimiento en los trigos chinos se ha logrado principalmente a través de una reducción de la altura de la planta, mayor tamaño de espiga y un mayor número de granos por unidad de superficie, junto con un aumento en la acumulación de C y N en los granos procedentes de las espigas y hojas bandera. De hecho, el aumento de la capacidad de sumidero podrá ser fundamental para aumentar el potencial de rendimiento. Sin embargo, la espiga juega un papel fotosintético muy importante durante el llenado del grano. Por otro lado cabe destacar que la Rubisco contribuye de manera sustancial a la acumulación de N en los granos, con el N procedente no sólo de la hoja bandera, sino también de la espiga. Por otro lado, la estabilidad del rendimiento es también un objetivo en la mejora genética del futuro, en particular en un contexto de clima más impredecible y la creciente preocupación medioambiental y económica sobre el uso indiscriminado de fertilizantes. La estabilidad del rendimiento se puede lograr a través de un mejor estado hídrico, asociado con el aumento de la absorción de agua, y un mayor NUE durante el llenado del grano, así como una mayor resistencia a estreses bióticos (como la roya amarilla) que son relevantes para las zonas agroecológicas objetivos.

Respecto a las técnicas de fenotipado para resistencia a la roya amarilla, puesto que esta enfermedad afecta a zona verde y la capacidad fotosintética, cualquier sistema que es capaz de evaluar de manera fiable la cantidad total de área verde del dosel deberá ser capaz de predecir el impacto de la roya amarilla en el rendimiento. En esta tesis, el uso de las imágenes RGB, para estimar índices de vegetación verde como predictores de rendimiento y tolerancia al estrés biótico, se demostró fiable y asequible. Los componentes de color de Hue, fracción verde, y la fracción más verde, fueron los indicadores más efectivos para estimar tanto el rendimiento absoluto como la susceptibilidad (pérdida de rendimiento) debido a la infección de la roya. Otros métodos convencionales tales como el contenido de clorofila de las hojas individuales, P_n , g_s , E o la depresión de temperatura de dosel representan enfoques más costosos y/o lentos. Aunque el uso de las imágenes RGB se ha propuesto en el trigo para

evaluar el impacto de estreses bióticos, incluyendo enfermedades fúngicas, el estudio incluido en esta tesis es el primero (que conozcamos) que emplea imágenes RGB de doseles (más que de hojas individuales) para evaluar el impacto de una enfermedad fúngica en trigo.