



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Componentes genéticos y fisiológicos que determinan la fenología del cultivo de cebada**

Nicolás Francisco Mastandrea Condenanza

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias Vegetales

Noviembre 2023

**Componentes genéticos y fisiológicos  
que determinan la fenología  
del cultivo de cebada**

Nicolás Francisco Mastandrea Condenanza

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias Vegetales

Noviembre 2023

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Ing. Agr. PhD. Silvia Germán, Ing. Agr. Dr. Andrés Locatelli e Ing. Agr. Dr. Sebartián Mazzilli, el 24 de noviembre de 2023.

Autor: Lic. Nicolás Mastandrea

Director: Ing. Agr. PhD. Ariel Castro.

En memoria del Ing. Agr. MSc. Luis Viega.

¡Gracias, Luis!

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis compañeros del Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía, con quienes he compartido este camino.

A Yolanda Fernández, por su involucramiento y compañía durante las actividades.

A Gastón Quero, por su aporte fundamental, y a Ariel Castro, por la dedicación para la concreción de este trabajo.

A mi familia, por su estímulo, confianza y apoyo incondicional.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	IV
TABLA DE CONTENIDO.....	V
RESUMEN .....	VII
SUMMARY. ....	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	9
1.1. EL CULTIVO DE CEBADA EN URUGUAY .....	9
1.2. FENOLOGÍA: INTERPRETANDO EL DESARROLLO DEL CULTIVO	10
1.2.1. <u>Duración de ciclo a antesis</u> .....	11
1.2.2. <u>Factores ambientales que determinan la floración</u> .....	12
1.2.3. <u>Número final de hojas y filocrón</u> .....	13
1.3. DETERMINANTES GENÉTICAS DEL CICLO E INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE.....	15
1.4. HERRAMIENTAS PARA EL ESTUDIO DE LAS BASES GENÉTICAS ..	18
1.4.1. <u>Mapas de ligamiento, marcadores moleculares y análisis de QTL</u> .....	18
2. DURACIÓN DEL CICLO DE CEBADA ( <i>HORDEUM VULGARE</i> L.): NÚMERO DE HOJAS, FILOCRÓN Y EFECTO DE LA TEMPERATURA.....	20
2.1 RESUMEN.....	20
2.2 ABSTRACT.....	21
2.3 INTRODUCCIÓN .....	22
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
2.5 RESULTADOS.....	27
2.6 DISCUSIÓN .....	34
2.6.1. <u>Duración del ciclo a antesis</u> .....	34
2.6.2 <u>Número final de hojas y filocrón</u> .....	37
2.6.3 <u>Relación entre ciclo a antesis, NFH y filocrón</u> .....	39
2.7 CONCLUSIONES.....	41

2.8 BIBLIOGRAFÍA .....	42
2.9 ANEXO.....	47
3.DETERMINACIÓN DE LOS COMPONENTES GENÉTICOS QUE DEFINEN LA FENOLOGÍA Y VARIABLES ASOCIADAS EN UNA POBLACIÓN RIL DE CEBADA CERVECERA ( <i>HORDEUM VULGARE</i> L.) .....	48
3.1 RESUMEN.....	48
3.2 ABSTRACT .....	49
3.3 INTRODUCCIÓN .....	50
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	53
3.5 RESULTADOS .....	56
3.5.1. <u>Descripción de las variables analizadas</u> .....	56
3.5.2. <u>Mapa de ligamiento</u> .....	61
3.5.3. <u>Identificación de QTL</u> .....	62
3.6 DISCUSIÓN .....	66
3.6.1. <u>Variables fenotípicas</u> .....	66
3.6.2. <u>Base genética de las variables</u> .....	68
3.7 CONCLUSIONES.....	72
3.7 BIBLIOGRAFÍA .....	73
4. <u>DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES</u> .....	77
4.1 FENOLOGÍA DEL CULTIVO Y TEMPERATURA.....	77
4.2 ASPECTOS GENÉTICOS SOBRE LA FENOLOGÍA .....	79
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	81

## RESUMEN

En Uruguay, la cebada cervecera es el segundo cultivo de invierno en importancia histórica. Su permanencia y expansión depende de la capacidad de responder a las exigencias de la industria maltera así como de adaptarse a las condiciones impuestas por la realidad agrícola actual. En ese sentido, la fenología juega un rol clave, ya que, junto con las condiciones de manejo, determina la adaptación de los cultivos a un ambiente determinado, lo cual repercute en el rendimiento potencial. Por lo tanto, comprender las bases genéticas detrás de las características fenológicas resulta de particular interés. El objetivo del presente trabajo fue avanzar en el conocimiento de las bases genéticas y fisiológicas que regulan las diferentes subfases preanthesis del desarrollo del cultivo de cebada y analizar algunos caracteres asociados, como número final de hojas (NFH) y filocrón. Para ello, se trabajó con un conjunto de nueve cultivares con fenología contrastante y con una población RIL (del inglés, *recombinant inbred lines*) que proviene del cruzamiento de dos cultivares contrastantes para duración de ciclo y sensibilidad al fotoperíodo (INIA Ceibo y Norteña Carumbé). Se caracterizaron ambos conjuntos fenotípicamente en cuatro ensayos de campo, determinando cuatro ambientes impuestos por dos fechas de siembra y dos años (que presentaron una diferencia de 2 °C de temperatura promedio entre sí). Al comparar épocas de siembras similares, entre los dos años, el ciclo a antesis fue más largo el año de mayor temperatura promedio para 5 cultivares en siembra temprana. Todos los genotipos tuvieron un mayor NFH en siembras tempranas durante el año de mayor temperatura, y 3 cultivares presentaron filocrones mayores el año de mayor temperatura, en siembra tardía. Existió correlación positiva de ciclo con NFH y filocrón en siembras tardías. En la segunda parte del trabajo, el análisis de QTL de la población permitió detectar efectos de QTL para fenología, respuesta al fotoperíodo, NFH, filocrón y altura en 1H, 2H, 3H, 6H y 7H. Los efectos detectados en 2H son sobre todo en ambientes tardíos y en 3H se identificó asociación en siembras tempranas. Los QTL coinciden con regiones donde se han identificado los genes *Ppd-H1* y *sdw1*. En 6H se detectó efectos para filocrón y NFH en dos regiones sin reportes previos para esas variables.

**Palabras claves:** cebada, fenología, QTL, filocrón, número final de hojas

## GENETIC AND PHYSIOLOGICAL COMPONENTS THAT DETERMINE THE PHENOLOGY OF THE BARLEY CROP

### SUMMARY

In Uruguay, malting barley is historically the second most important winter crop. Its presence and expansion depends on its ability to respond to the malting industry requirements as well as to adapt to the conditions imposed by the current production conditions. Phenology plays a key role for that goal since, together with crop husbandry, it determines crop adaptation to a given environment, affecting yield potential. Therefore, understanding the genetic bases of key phenological traits is of great interest. The main goal of the present work was to advance on the knowledge of the genetic and physiological bases that regulate the different sub-phases of barley development and to analyze some related traits as final leaf number (FLN) and phyllochron value. In order to achieve these goals we used a group of nine varieties with contrasting phenology and a RIL (recombinant inbred lines) population obtained from the cross of two cultivars with contrasting phenology (INIA Ceibo and Norteña Carumbé). Both populations were phenotypically characterized in four field trials, defined by two sowing dates and two years (with a difference of 2 °C in average temperature). When comparing similar sowing dates, between the two years, we found that the time to anthesis was longer in the warmer year for five varieties in early sowing. All varieties had higher FLN in early sowing in the warmer year, and three cultivars had higher phyllochron value in late sowing in the warmer year. We detected a positive and significant correlation between time to anthesis with FLN and phyllochron, in late sowing. The QTL analysis of the RIL population detected QTL effects for duration of sub-phases, time to anthesis, photoperiod response, FLN, phyllochron and plant height on chromosomes 1H, 2H, 3H, 6H and 7H. QTL effects on 2H were detected mainly on late sowing and QTL effects on 3H on early sowing. QTL on these two chromosomes were located on the *Ppd-H1* y *sdw1* regions. Novel QTLs for FLN and phyllochron were detected on 6H.

**Key words:** barley, phenology, QTL, phyllochron, final leaf number

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. EL CULTIVO DE CEBADA EN URUGUAY

La cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) es una planta herbácea anual y hermafrodita, de fecundación autógama, cuyo cultivo se extiende en las zonas templadas (Molina Cano, 1989). Es una especie diploide  $2n=14$ , con 7 cromosomas citológicamente diferenciados y un tamaño genómico de unos  $5,3 \times 10^9$  pares de bases.

La producción de cebada cervecera en América del Sur alcanzó los 7 millones de toneladas en 2022 (FAOSTAT, 2022), lo que representó un 4,6 % de la producción mundial, siendo el continente europeo el principal productor. En nuestro país, la cebada es el segundo cultivo de invierno en importancia con una superficie sembrada de 211.000 hectáreas y una producción de 897.000 toneladas (DIEA, 2022).

El mejoramiento genético y la liberación de variedades de cebada maltera en Uruguay ha sido un trabajo conjunto de la industria (actualmente Maltería Oriental SA y Maltería Uruguay SA) y las instituciones oficiales (INIA y Facultad de Agronomía, UdelaR). Una parte de esas variedades fueron introducidas de otras regiones de producción (Australia, Europa, Argentina, Brasil, Dakota del Norte) por su aporte en calidad maltera y rendimiento potencial y otras han sido desarrolladas en el país e incorporadas por la industria maltera (Castro, 2007).

El desafío del mejoramiento nacional ha sido desarrollar genotipos que, además de presentar buenas cualidades malteras, buen estatus sanitario y alto potencial de rendimiento en condiciones óptimas, posean adaptabilidad agronómica en nuestra región (Locatelli et al., 2013).

Se conoce como fenología a la secuencia de eventos del desarrollo (estado vegetativo, estado reproductivo, llenado de grano, etc.) en un ambiente determinado. La adaptación y el rendimiento de un cultivar a un ambiente productivo depende en primer

lugar de la fenología que presente (Richards, 1991): tanto la duración del ciclo como la partición de este en sus distintas fases determinan la eficiencia de un genotipo en un determinado ambiente de producción.

Una herramienta con potencial de contribución al desarrollo de los programas de mejoramiento es la identificación de las regiones genómicas asociadas a variables de interés agronómico (Locatelli, 2011). El mapeo de QTL (quantitative traits locus) o el mapeo asociativo son herramientas útiles para el estudio de las bases genéticas de los caracteres de interés (Locatelli et al., 2013).

Los avances en biología molecular han permitido identificar y mapear diversos genes o QTL que tienen que ver con rendimiento, tolerancia a estrés o adaptación (Slafer, 2003). En el caso de cebada en Uruguay, todavía es necesario el desarrollo de información genómica relevante para la especie (Locatelli et al., 2022, Castro et al., 2017, Locatelli, 2011). La disponibilidad de poblaciones de mapeo, el genotipado y el fenotipado de estas para las características que afectan el desarrollo permitirá generar información adicional sobre esta temática.

## 1.2. FENOLOGÍA: INTERPRETANDO EL DESARROLLO DEL CULTIVO

El principal mecanismo que tienen las plantas para escapar del estrés biótico y abiótico y adaptarse al ambiente es su propio desarrollo; esto afecta las prácticas de manejo, ya que estas son efectivas dependiendo del estadio específico del cultivo (McMaster y Moragues, 2018). Por eso, junto con las prácticas de manejo, uno de los factores claves que determinarán la adaptación de los cultivos es conocer su fenología (Castro et al., 2008).

Conocer los momentos relevantes del desarrollo como el pasaje de estado vegetativo a estado reproductivo, el tiempo óptimo para la floración, o lograr un ajuste fino de la fenología es importante para lograr mejores rendimientos (Borrás et al., 2010).

Combinando las diferentes fases del desarrollo con las condiciones ambientales adecuadas se logrará una mejor adaptación de los cereales a una zona determinada con la obtención de granos de calidad y altos rendimientos (Sato et al., 2020, Slafer et al., 2015). El crecimiento y los procesos involucrados en el desarrollo determinarán ese rendimiento final junto con la influencia de diversos genes con diferentes efectos (Slafer, 2003).

Un factor clave en la adaptación a ambientes muy diferentes es la plasticidad que puedan presentar las plantas durante su desarrollo, ya que el ciclo de vida estará condicionado por las variaciones anuales que pueda experimentar (McMaster y Moragues, 2018). En ese sentido, la cebada es una planta modelo, ya que su plasticidad le ha permitido ser cultivada en ambientes muy diversos.

### **1.2.1. Duración de ciclo a antesis**

El ciclo a floración del cultivo de cebada se puede dividir en diferentes fases y su nomenclatura puede cambiar según el autor. En general, se describen tres etapas, una inicial que corresponde a iniciación de primordios de hojas en el meristemo apical o fase preinductiva, otras donde se inician los primordios de espiguillas en el meristemo apical o fase inductiva y una tercera etapa donde se da el crecimiento de esas espiguillas o fase posinductiva.

En la primera fase se determina el número de primordios foliares de un tallo; en la segunda, el número de primordios de espiguillas por espiga, y en la tercera se concreta el número final de tallos y el número final de espiguillas por espiga y, por tanto, el número final de granos por superficie. El ciclo total se completa con una cuarta etapa, posterior a floración, donde se produce el crecimiento o llenado del grano (Viega et al., 2005). Las primeras tres fases constituyen el ciclo a floración o antesis y pueden dividirse también en vegetativo, reproductivo temprano y parte del reproductivo tardío (Alqudah y Schnurbusch, 2014).

En Uruguay, el ideotipo de cebada a utilizar implicaría cultivares con duraciones del ciclo a floración que no hipotequen el rendimiento potencial, que tengan un período largo de llenado de grano (Castro et al., 1997) y que ese período se inicie relativamente temprano, es decir, con floraciones tempranas. En las condiciones de Uruguay, el retraso en el llenado de grano puede ubicar esta etapa bajo condiciones de altas temperaturas, lo que afecta el número y peso final de los granos (Castro et al., 2008).

La fase de encañado es crítica para la concreción de un mayor número de granos por espiga, ya que en esta etapa ocurren abortos de espiguillas (Alqudah y Schnurbusch, 2014), lo que afecta el porcentaje de fertilidad de las espiguillas y de los tallos (Whitechurch et al., 2007, Viega et al., 2005). Tanto en trigo como en cebada existe variabilidad en la duración de la fase de encañado y en la fase vegetativa, en cultivares con una misma duración del ciclo a antesis (Whitechurch et al., 2007).

### **1.2.2. Factores ambientales que determinan la floración**

Modificaciones en el ambiente generan cambios en el desarrollo de los cultivares acelerando o atrasando el momento de floración. La temperatura es uno de los factores que presenta fluctuaciones entre años, a diferencia de lo que ocurre con el fotoperíodo.

Se conoce como vernalización al requerimiento de bajas temperaturas para que el ápice meristemático sea competente, es decir, pase de vegetativo a reproductivo. Los cereales varían en sus requerimientos de vernalización: algunas variedades florecen sin vernalización, mientras que en otras es obligatoria (Hemming et al., 2008).

En el primer caso, si no hay requisitos de vernalización o son muy bajos, se considera a esos cultivares como primaverales, mientras que se considera de hábito invernal a aquellos en los que la vernalización es obligatoria. Puede considerarse un mecanismo de adaptación que les permite a las plantas sincronizar su desarrollo con los cambios ambientales que ocurren en las diferentes estaciones (McMaster y Moragues, 2018).

Lo mismo ocurre con la sensibilidad al fotoperíodo, que en trigo permite la adaptación a diferentes ambientes (Ochagavía et al., 2017) y puede provocar cambios en el número de espiguillas fértiles afectando parámetros de rendimiento en cebada (Alqudah y Schnurbusch, 2014).

Variedades sensibles retrasarán la floración con días cortos o la acelerarán en días largos, mientras que los cultivares insensibles acelerarán la floración en días largos o cortos (Bentley et al., 2013). En condiciones de campo para trigo y cebada en Argentina (34°35'S, 58°29'W), para fechas de siembra contrastantes, se observan cambios en la duración del ciclo a antesis y en la partición de las fases entre cultivares, siendo la sensibilidad al fotoperíodo y la precosidad intrínseca los responsables genéticos detrás de ese comportamiento (Whitechurch et al., 2007).

Cuando los requerimientos de vernalización y fotoperíodo han sido completados pero de todas formas existen diferencias en el tiempo a antesis, esas variaciones pueden ser atribuidas a la precosidad intrínseca (Slafer et al., 2015).

### **1.2.3. Número final de hojas y filocrón**

Una vez diferenciados los primordios de hojas en el meristema, se produce en forma sucesiva la aparición y expansión foliar, lo que está relacionado linealmente con la temperatura acumulada por el cultivo (Slafer et al., 1994).

La aparición de la espiga ocurre *a posteriori* de que haya aparecido la última hoja en el tallo (hoja bandera). El tiempo que sucede entre la diferenciación de los primordios foliares y la aparición y expansión de la lámina de la hoja bandera está asociado a la cantidad de primordios diferenciados en la etapa vegetativa (Kirby, 1990, Slafer et al., 1994) y al tiempo que transcurre entre la aparición de una hoja y la siguiente (Abeledo et al., 2004, Frank y Bauer, 1995).

Como se mencionó anteriormente, el número final de hojas por tallo depende de la tasa y duración del proceso de diferenciación foliar en el ápice meristemático, evento que ocurre durante la fase emergencia-inicio de macollaje. Modificaciones en la duración de dicha fase, ya sea por razones genéticas o ambientales, pueden modificar la cantidad de hojas por tallo y, como consecuencia de esto, la duración del ciclo a floración (Borras et al., 2009, Boyd et al., 2003, Slafer y Rawson, 1997).

La fecha de siembra y, a través de ella, los cambios en el fotoperíodo y en la temperatura tienen efecto tanto sobre el número de hojas como sobre su tasa de emergencia (Jamieson et al., 2008, Brooking et al., 1995).

Las tasas de emergencia de hojas son más rápidas a medida que se atrasa la fecha de siembra; de acuerdo a Wilhelm y Mc Master (1995), el valor de filocrón depende de factores ambientales y genéticos. En cebada se han encontrado cambios en los valores de filocrón de acuerdo a la época de siembra; algunos autores lo asocian con la longitud y la tasa de cambio del fotoperíodo después de la emergencia de la planta (González y Xavier, 2000, Kernich et al., 1995, Kirby et al., 1985), mientras que otros indican que no existe esta relación con la tasa de cambio del fotoperíodo (Slafer et al., 1994).

La correlación entre el tiempo térmico y el número de hojas es lineal para diferentes genotipos y fotoperíodos (Kernich et al., 1995, Cao y Moss, 1989), pero Slafer y Rawson (1997) consideran que el fotoperíodo afecta el filocrón de dos maneras: por un lado, fotoperíodos cortos aumentan el filocrón y, por otro lado, puede ocurrir una relación no lineal entre el número de hojas y el tiempo, lo que implica que podría existir reducción en la tasa de aparición después de que hayan aparecido cierta cantidad de hojas.

En ese sentido, Digel et al. (2016) señalan que el valor del filocrón puede cambiar en algunos genotipos de acuerdo a la posición de la hoja en el tallo, tanto en días largos como en días cortos, mientras que en otros permanece incambiado. Estos autores

atribuyen las diferencias en la tasa de aparición de hojas o la duración en la elongación de las hojas a la presencia del alelo *Ppd-H1*.

En estudios previos en cebada, nuestro grupo de trabajo ha reportado una asociación lineal, en épocas de siembra tardías o bajo fotoperíodos largos, entre el valor del filocrón y la duración del ciclo a floración en genotipos con mayor sensibilidad al fotoperíodo (Mastandrea, 2015). Sin embargo, no se han identificado genes o QTL asociados a la determinación del valor de filocrón y características asociadas y el grado de coincidencia con aquellas regiones del genoma que determinan la duración de las distintas fases del desarrollo.

### 1.3. DETERMINANTES GENÉTICAS DEL CICLO E INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE

Se conocen tres grupos de genes que controlan el tiempo a antesis e influyen sobre la inducción floral (cambio de estado del ápice meristemático de vegetativo a reproductivo). Son los genes de respuesta al fotoperíodo, a la vernalización y de precosidad intrínseca.

Muchas plantas alcanzan la floración en una determinada época del año al medir variaciones en el fotoperíodo (Turner et al., 2005), y la percepción de dicho estímulo puede cambiar entre las diferentes fases de un cultivo. Entender las diferentes sensibilidades al fotoperíodo para las distintas fases ha sido propuesto como una herramienta útil para incrementar los rendimientos (Slafer et al., 2015). Los genes *Ppd-H1* y *Ppd-H2* han sido identificados como los principales genes de respuesta al fotoperíodo. *Ppd-H1* en el cromosoma 2H regula el momento de floración bajo días largos, mientras que *Ppd-H2* en el cromosoma 1H es detectado en días cortos (Laurie et al., 1995).

Las cebadas invernales requieren de la vernalización para promover la floración en condiciones de día largo (Turner et al., 2005), y la expresión del gen *Vrn-H1* inducido por la vernalización es esencial para que se produzca el cambio en el ápice de vegetativo a reproductivo (Fernández-Calleja et al., 2021). En Uruguay, por las temperaturas templadas en la que se desarrolla el cultivo, los cultivares utilizados son de hábito primaveral. En general, las cebadas de este tipo no presentan vernalización y su respuesta a los días largos cambia de acuerdo a la temporada de crecimiento para la que hayan sido seleccionadas (Turner et al., 2005). De acuerdo a Cuesta-Marcos et al. (2015), la sustitución de un alelo primaveral en cualquiera de los loci *Vrn* alcanzará para eliminar los requerimientos de vernalización. Tres genes principales han sido identificados en cebada controlando la respuesta a la vernalización, *Vrn-H1*, *Vrn-H2* y *Vrn-H3* (Takahashi y Yasuda, 1970).

Otros grupo de genes que afectan el tiempo a floración y no parecen estar relacionados con la respuesta al fotoperíodo o la vernalización son los llamados genes de earliness per se (*eps*) o precocidad intrínseca como los genes *eps2S* (*eam6*), *eps3L* (*eam10*), *eps4L*, *eps5L*, *eps6L*, entre otros (Slafer et al., 2015, Borrás et al., 2010, Turner et al., 2005, Laurie et al., 1995).

En nuestro país se ha reportado independencia en el control genético de las fases del ciclo a floración en la población doble haploide de cebada Baronesse/Full Pint. Efectos aditivos de los genes *eps2S* (2H) y *sdw1/denso* (3H) afectan la duración del ciclo a floración, siendo *sdw1* responsable de la duración del período inicio macollaje-inicio encañado y *eps2S* controlando las subfases siembra-inicio de macollaje e inicio de encañado-antesis (Castro et al., 2017).

Además de las fases del desarrollo mencionadas, independientes en control génico, hay que considerar que el canopeo de un cultivo se construye a partir del macollaje y la tasa de aparición de hojas, y, por lo tanto, que el control genético del macollaje y la tasa de aparición de hojas estén bajo un control independiente puede ser importante para evitar efectos negativos en estos parámetros en el caso de posibles reducciones

en la fase inicial del desarrollo (Borras et al., 2010). Trabajando en una población doble haploide de cebada, estos autores encontraron que el filocrón y en número final de hojas están controlados por diferentes QTL y que estas regiones en algún caso coinciden con las de duración de las diferentes fases del ciclo.

El gen denso (*sdw1*), además de tener efecto sobre la subfase Z2.0-Z3.0 (Zadoks et al., 1974), es responsable de acortar el largo de los entrenudos e incrementar el número de macollos (Kuczyńska et al., 2014, Jia et al., 2009, Laurie et al., 1995) y el gen *Ppd-H1*, además de tener efecto sobre el momento de la floración en días largos, está relacionado con el control del tamaño de la lámina (Digel et al., 2016) en plantas de cebada.

A pesar de que las referencias en la literatura sobre tasa de aparición de hojas y filocrón es considerable (Dofing, 1999, Slafer y Rawson, 1997, Frank y Bauer, 1995, Cao y Moss, 1989), existen pocos trabajos sobre las determinantes genéticas asociadas al valor del filocrón. Estudios en ese sentido han sido realizados en arroz: Miyamoto et al. (2004) detectaron tres QTL que controlan el filocrón en una población RIL con padres contrastantes para filocrón y número de macollos. En el trabajo ya mencionado de Borras et al. (2009) en cebada identifican un QTL para filocrón en el 7HS y otro en el 1HS, coincidentes con QTL para aparición de aristas (momento de la anthesis en cebada); también se identifica un QTL en 2HS como el más importante para número final de hojas para esa población en particular.

En trigo, dos QTL Eps identificados recientemente (*Eps-7D* y *Eps 2D*) están asociados a número final de hojas y tasas de aparición, el alelo *Eps-7D-early* se asocia a una tasa de aparición de hojas más rápida, mientras que *Eps 2D* afecta levemente el número de hojas, sin efectos sobre la tasa de aparición (Basavaraddi et al., 2021).

## 1.4. HERRAMIENTAS PARA EL ESTUDIO DE LAS BASES GENÉTICAS

La cebada es una especie casi exclusivamente autógama, modelo genético de la familia Triticeae, diploide con  $2n=2x=14$  y con un tamaño genómico de aproximadamente 5000 Mb (Muñoz-Amatriaín et al., 2014). Se dispone de una gran colección del género *Hordeum*, compuesta por más de 485.000 muestras, donde se incluyen cultivares viejos y nuevos, variedades locales, especies salvajes, líneas de mejoramiento y poblaciones de mapeo (Sato, 2020).

Las tecnologías genómicas y moleculares en continuo desarrollo (introgresión de alelos beneficiosos, identificación de loci relevantes, mayor densidad de marcadores) junto con la variación genética de cebadas salvajes y cultivadas hacen que este cereal sea muy apropiado para estudios genómicos, y tener la posibilidad de obtener fácilmente información fenotípica y genotípica es una ventaja para los mejoradores (Sato, 2020, Muñoz-Amatriaín et al., 2014).

### 1.4.1. Mapas de ligamiento, marcadores moleculares y análisis de QTL

En las últimas décadas se han utilizado los marcadores moleculares, basados en diferencias en la secuencia genética entre individuos (causados por mutaciones, inserciones, deleciones, etc.), para identificar o etiquetar genes de interés (Mohan et al., 1997) en investigaciones de diversos cultivos. Uno de los principales usos que se les ha dado a los marcadores moleculares ha sido la construcción de mapas de ligamiento (Collard et al., 2005).

Un mapa de ligamiento representa la posición y distancia genética relativa entre marcadores a lo largo de un cromosoma (Collard et al., 2005), consecuencia de los datos fenotípicos de recombinación entre gametos provenientes de dos individuos disímiles en los caracteres a evaluar (Locatelli, 2011). Estos mapas de ligamiento permiten la identificación de regiones de los cromosomas que contienen genes

controlando rasgos simples (controlados por un solo gen) o características controlados por un grupo de genes, rasgos cuantitativos (Collard et al., 2005); para estudiar estos últimos se utiliza el análisis de QTL.

Las regiones del genoma que contienen genes asociados a rasgos cuantitativos se conocen como QTL (del inglés, quantitative trait locus) y el análisis de estos QTL se podría definir como una asociación estadística entre la segregación de marcadores genotípicos y valores fenotípicos de variables de interés, sobre líneas individuales (Riaz et al., 2021, Asins, 2002).

La construcción de un mapa de ligamiento y el análisis de QTL requiere de una población segregante y balanceada y con datos de recombinación conocidos (Riaz et al., 2021). Las poblaciones obtenidas surgen de la cruce de padres que presenten diferencias en uno o más rasgos de interés; utilizar una población biparental proveniente de una cruce particular permitirá maximizar la recombinación de fragmentos del genoma de los padres, de acuerdo a la cantidad de eventos, con la diferencia entre los parentales limitando la base genética (Collard et al., 2005, Asins, 2002).

El objetivo general del presente trabajo es la caracterización fenotípica y la identificación de regiones genómicas asociadas a duración del ciclo y aquellas que afectan la tasa de aparición y el número final de hojas por tallo como posibles determinantes de la fenología del cultivo de cebada, en una población de cebada maltera INIA Ceibo x Norteña Carumbé, bajo las condiciones de producción de Uruguay. Para ello se analizó la fenología en cuatro ambientes dados por las distintas fechas de siembra y años y se realizó un análisis de QTL en una población de líneas recombinantes endocriadas (en inglés, RIL) de 82 individuos, obtenida de los padres antes mencionados, dos materiales adaptados a nuestras condiciones de producción y con adecuada calidad maltera.

## **2. DURACIÓN DEL CICLO DE CEBADA (*HORDEUM VULGARE* L.): NÚMERO DE HOJAS, FILOCRÓN Y EFECTO DE LA TEMPERATURA**

Nicolás Mastandrea<sup>1</sup>, Ariel Castro<sup>2</sup>, Gastón Quero<sup>1</sup>, Luis Viega<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

<sup>2</sup>Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay

### **2.1. RESUMEN**

El genotipo y los factores ambientales afectan la duración del ciclo a floración y sus subfases a través de cambios en el número final de hojas (NFH) y el valor del filocrón. En cuatro ambientes (dos años y dos fechas de siembras contrastantes) se cuantificaron dichas variables en ensayos de campo en nueve cultivares previamente caracterizados por su fenología y por ser representativos del cultivo en Uruguay. Siembras en condiciones de mayor temperatura y fotoperíodos largos redujeron la duración del período emergencia-antesis asociado a una reducción del número de hojas y el valor del filocrón con una fuerte correlación entre estas variables y el ciclo a antesis. Sin embargo, todos los genotipos tuvieron un mayor NFH en siembras tempranas y siete de ellos en siembras tardías, durante el año de mayor temperatura promedio. El ciclo a floración en grados días fue más largo en el año de mayor temperatura promedio para 5 cultivares en siembra temprana y para 2 en siembra tardía; en época de siembra tardía los ciclos fueron iguales en los dos años para la mayoría de los cultivares. El valor del filocrón fue el mismo para siembras tempranas de los dos años, pero 3 cultivares presentaron filocrones mayores en el año de mayor temperatura en siembra tardía.

**Palabras claves:** cebada cervecera, tasa aparición de hojas, desarrollo, fotoperíodo, temperatura

## 2.2. ABSTRACT

Genotype and environmental factors determine flowering time and its sub-phases through changes in the final leaf number (FLN) and the phyllochron. In four environments (two years and two contrasting sowing date) these variables were quantified in field trials in nine cultivars previously characterized by their phenology and for being representative of the crop in Uruguay. Experiments under high temperature and long photoperiod have reduced duration of the emergence-anthesis period associated with a reduction in FLN and phyllochron and significant correlation between these traits and anthesis time. However, with differences of approximately 2°C between years, all genotypes had a higher FLN in early sowings and seven out of nine in late sowings in the warmer year. The flowering cycle was longer in the warmer year for 5 cultivars in early sowing and for 2 in late sowing. At the late sowing date the anthesis time was similar in both years for most of the cultivars. The phyllochron was the same for early sowing in both years, but 3 cultivars presented larger phyllochrons in the warmer year in late sowing.

**Keywords:** malting barley, leaf appearance rate, development, photoperiod, temperature

## 2.3. INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es el segundo cultivo de invierno en Uruguay tanto en superficie sembrada como en toneladas producidas (DIEA, 2022), destinando casi la totalidad de su producción a la industria maltera. Su permanencia en el sistema productivo requiere el desarrollo de cultivares adaptados a nuestro ambiente, que potencien su rendimiento y calidad.

La comprensión de la fenología, el ajuste y manejo apropiado de los ciclos (Castro *et al.*, 2008) y la adecuada combinación de las subfases del desarrollo bajo las condiciones más favorables posibles, entre otros aspectos, son claves para la adaptación de un cultivar a su ambiente (Slafer, 2003).

El fotoperíodo y la temperatura son los principales factores ambientales que modulan esa adaptación en cereales como trigo o cebada (Ochagavía *et al.*, 2017, Hemming *et al.*, 2008). Dichos factores, su interacción y las características propias de cada cultivar pueden modificar el desarrollo del ciclo y de cada una de las subfases del cultivo (Slafer y Rawson, 1996) al sincronizar con las condiciones ambientales más apropiadas.

La cebada es una especie de respuesta cuantitativa a días largos, por lo que sus tasas de desarrollo aumentan cuando los fotoperíodos se extienden, con diferencias varietales en el nivel de sensibilidad a la duración del día (Miralles *et al.*, 2014). Cuando existen requerimientos de vernalización, el ciclo a floración se completa o acelera cuando el cultivo es expuesto a bajas temperaturas, mientras que, cuando esas necesidades no son satisfechas, los ciclos se retrasan e incluso no florecen. Los cultivares sin requerimientos de vernalización son considerados de hábito primaveral.

Incrementos en la temperatura (en cultivares sin requerimientos de vernalización) aceleran la tasa de desarrollo de cultivos como el trigo y provocan cambios en la duración de los ciclos (Slafer y Rawson, 1994); pueden incluso afectar la sensibilidad al fotoperíodo en las diferentes subfases del desarrollo (Slafer y Rawson, 1996).

El ciclo fenológico de la cebada se puede dividir en cuatro períodos: siembra-inicio de macollaje, macollaje, encañado y llenado de grano. En cada una de estas fases

ocurren eventos asociados a la diferenciación de estructuras vegetativas y reproductivas en el ápice meristemático. En la primera fase se diferencia el número de primordios foliares de un tallo; en la segunda, el número de primordios de espiguillas por espiga; en la tercera se concreta el número de granos por espiga y en la última se produce el crecimiento del grano (Viega *et al.*, 2005, Molina Cano, 1989, Waddington *et al.*, 1983, Kirby y Appleyard, 1981).

El número final de hojas (NFH) por tallo depende de la tasa y duración del proceso de diferenciación foliar en el ápice meristemático, evento que ocurre durante el período emergencia-inicio de macollaje. Cambios en la duración de dicha fase ya sea por razones genéticas o ambientales pueden modificar la cantidad de hojas por tallo y, por tanto, la duración de los ciclos a floración (Borras *et al.*, 2009, Boyd *et al.*, 2003, Slafer y Rawson, 1997). Una vez diferenciados los primordios de hojas se produce en forma sucesiva la aparición y expansión foliar. El tiempo que transcurre desde la diferenciación de los primordios foliares hasta la aparición y expansión de la hoja bandera está asociado a la cantidad de primordios diferenciados y a la tasa de aparición de hojas, que es afectada por factores genéticos y ambientales (Kernich *et al.*, 1995, Wilhelm y McMaster, 1995).

Al intervalo entre la aparición de dos hojas sucesivas se lo conoce como filocrón y es utilizado como una medida de la tasa de desarrollo de las hojas de las plantas (Hay y Ellis, 1998, Frank y Bauer, 1995). En cebada se han encontrado cambios en sus valores, asociados a diferentes momentos de siembra, por efecto de la longitud y la tasa de cambio del fotoperíodo posemergencia (Miralles *et al.*, 2007, González y Xavier, 2000, Kernich *et al.*, 1995) así como por la temperatura (Slafer y Rawson 1995). Para Abeledo *et al.* (2004), los cambios en el filocrón a lo largo del desarrollo del cultivo podrían deberse a diferentes efectos de las temperaturas cardinales sobre la emergencia de las hojas y, aunque la tendencia general es a un incremento de la tasa de aparición de hojas con aumentos de temperaturas, al sobrepasar temperaturas óptimas podría darse un aumento del filocrón (Tamaki *et al.*, 2002, Slafer y Rawson 1995, Cao y Moss, 1989).

El hecho de que los mecanismos que controlan el desarrollo en cebadas primaverales no se fijan durante una etapa del desarrollo, sino que son influenciados

por la temperatura antes y durante cada una de las etapas de desarrollo (Frank y Bauer, 1997), sumado al hecho de que las temperaturas cardinales para cada evento (aparición de hojas, elongación de tallo) pueden ser diferentes (Slafer y Rawson, 1995), muestra la complejidad y los distintos abordajes que puede tener cada ambiente

El presente trabajo tiene como objetivo aportar información sobre la fenología del cultivo de cebada, enfocándose en rasgos de relevancia como el número de hojas y el filocrón, estudiando su relación con la duración del ciclo y sus subfases. Para eso se trabajó con genotipos con diferente sensibilidad al fotoperíodo, que fueron estudiados en cuatro ambientes diferentes, definidos por las fechas de siembra y años.

## **2.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se evaluaron en cuatro ensayos de campo nueve genotipos de diferentes orígenes: INIA Ceibo (Uruguay), Norteña Carumbé (Uruguay, desarrollada en la NDSU, EUA), Estanzuela Quebracho (Uruguay, desarrollada originalmente en Australia), Baronesse (Alemania), Bowman (EUA), Danuta (Alemania), Kenia (Dinamarca), Logan (EUA) y Prior (Australia).

Los experimentos fueron sembrados en fechas contrastantes: 14 de junio de 2016 (E1 2016), 27 de junio de 2017 (E1 2017), 27 de setiembre de 2016 (E2 2016) y 13 de octubre de 2017 (E2 2017), en el predio experimental de la Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay (34°51'S, 56°12'W). Las fechas de siembra se corresponden con fotoperíodos cercanos a 10 h (junio) y mayores a 12 h (setiembre-octubre). La siembra se realizó a mano en parcelas de dos surcos de 1 m de largo separados por 0,20 m y 0,30 m entre parcelas. Se fertilizó con urea equivalente a 45 kg ha<sup>-1</sup> después de inicio de macollaje de acuerdo a recomendación. Las malezas fueron removidas a mano periódicamente.

Se registraron las fechas de los eventos: emergencia (E), inicio macollaje (Z2.1, Zadoks *et al.*, 1974), inicio encañado (Z3.1) y antesis (A) cuando el 50 % de las plantas de la parcela estaban en esa condición. Se consideró como momento de antesis cuando las aristas estaban 1 cm aproximadamente encima de la vaina de la hoja bandera (Castro *et al.*, 2017, 2008, Locatelli *et al.*, 2022, 2013). En cada parcela se realizó el

seguimiento de cinco plantas elegidas al azar y se registró (después de que las plantas superaron el estado Z2.1), al menos dos veces a la semana, el número de hojas en el tallo principal, de acuerdo a la escala de Haun (Haun, 1973) hasta llegar a la hoja bandera, siendo este el NFH.

La duración del ciclo a antesis y de las subfases E-Z2.1, Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A se calculó en grados días (°Cd) acumulados, utilizando una temperatura base de 0 °C. Con la media obtenida a partir de las diferencias de ciclo a antesis entre épocas de siembra, se determinó la sensibilidad al fotoperíodo de los genotipos en cada año (Locatelli *et al.*, 2022, Castro *et al.*, 2017), identificando a los cultivares de mayor sensibilidad por encima de la media y los menos sensibles por debajo de ella. El valor del filocrón (°Cd) se calculó como la inversa de la pendiente de la regresión lineal entre el número de hojas en el tallo principal y el tiempo térmico acumulado (Cao y Moss, 1989).

Para los cuatro ensayos se utilizó un modelo factorial bajo un diseño de bloques completos al azar (DBCA), con tres repeticiones en los ensayos realizados en 2016 y cuatro repeticiones en los ensayos de 2017 de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \epsilon_{ij},$$

donde  $Y_{ij}$  = variable,  $\mu$  = media poblacional,  $G_i$  = efecto i-ésimo genotipo,  $B_j$  = efecto j-ésimo bloque,  $\epsilon_{ij}$  = error experimental.

Las medias ajustadas para cada genotipo se obtuvieron mediante un modelo mixto donde el factor genotipo se consideró fijo y los bloques como aleatorios.

Para el cálculo de la interacción genotipo-ambiente se usó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + G_j + A_k + (G*A)_{jk} + \epsilon_{ijk},$$

donde  $Y_{ijk}$  = variable,  $\mu$  = media poblacional,  $B_i$  = efecto i-ésimo bloque,  $G_j$  = efecto j-ésimo genotipo,  $A_k$  = k-ésimo ambiente,  $(G*A)_{jk}$  = interacción del j-ésimo genotipo con el k-ésimo ambiente,  $\epsilon_{ijk}$  = error experimental.

Las medias ajustadas para cada tratamiento se obtuvieron mediante un modelo mixto en el que los factores genotipo y ambiente se consideraron como fijos y los bloques como aleatorios.

Los modelos y los ANOVAS fueron ajustados utilizando el paquete *lme4* (Bates *et al.*, 2015) del software libre R (R Core Team 2021).

La media ajustada en ambos modelos y los contrastes se realizaron usando el paquete *emmeans* (Russell, 2019) del software libre R (R Core Team, 2021).

El análisis de correlación se realizó con el software Infostat. Los datos ambientales (precipitaciones, temperatura máxima y temperatura mínima del aire) fueron obtenidos de la estación meteorológica que se encuentra en el predio donde se realizaron los ensayos.

## 2.5. RESULTADOS

Las condiciones ambientales de los distintos experimentos presentaron diferencias, tanto entre los correspondientes al mismo año como en los de distintos años y similar fecha de siembra. La variación más importante entre los años fue la temperatura: durante 2017 se registraron valores de aproximadamente 2 °C por encima de los registrados en 2016, en ambas fechas de siembra (Fig. 1). En lo que refiere a las precipitaciones, durante el año 2017 la primera época de siembra acumuló 170 mm más que la misma época del año 2016.

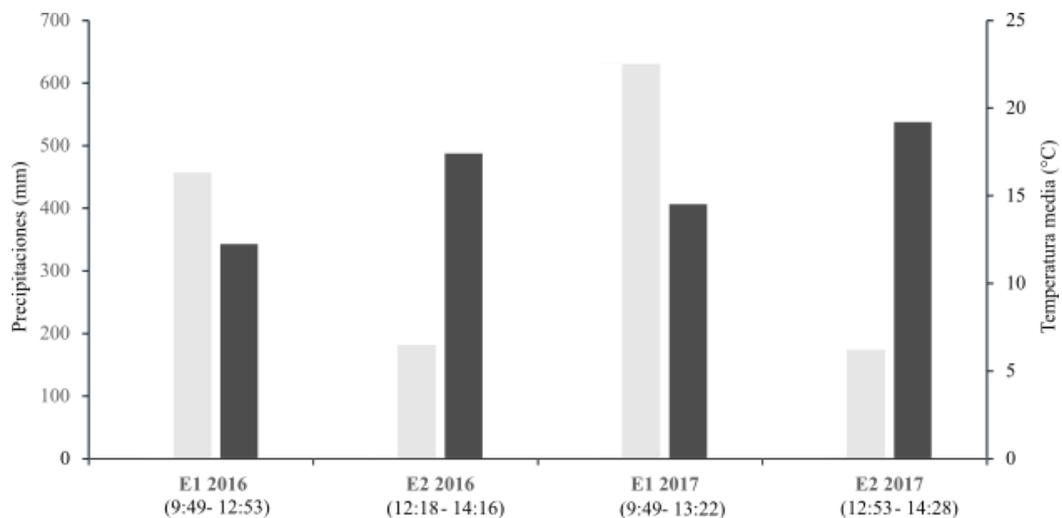


Figura 1. Precipitaciones acumuladas (gris claro) y temperatura media (gris oscuro) en los cuatro ambientes durante el ciclo a antesis. Entre paréntesis se indica el intervalo de fotoperíodo (h) para cada ambiente.

El análisis conjunto de todos los experimentos identificó efectos significativos del ambiente, el genotipo y también de la interacción genotipo x ambiente (G x A) para cinco variables: ciclo emergencia-antesis (E-A), las subfases Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A, para el número final de hojas (NFH) y para filocrón (Tabla 1 y Tabla Anexo 1).

Tabla 1. Análisis de varianza para las variables ciclo a antesis (E-A) (°Cd), número final de hojas (NFH) y filocrón (°Cd). F. D. V. = fuente de variación; S. S. = suma de cuadrados; M. S. = cuadrado medio; Num. DF = grados de libertad; Den.DF =; F\_val = valor de F; Pr (>Fval) = nivel significancia; \*\*\*= p < 0,001; \*\*= p < 0,01; \*= p < 0,05; ns = no significativo. G x A = interacción.

Variable	F. D. V.	S. S.	M. S.	Num.DF	Den.DF	F_val	Pr (>Fval)	
<b>E-A (°Cd)</b>	Genotipo	667721,44	83465,18	8	78	11,7187575	8,51E-11	***
	Ambiente	1201297,18	400432,39	3	9.9	56,2218892	1,59E-06	***
	GxA	713546,12	29731,09	24	78	4,17433252	8,54E-07	***
<b>NFH</b>	Genotipo	89,76	11,22	8	471	19,1981846	4,71E-25	***
	Ambiente	1050,22	350,07	3	471	599,026231	2,68E-160	***
	GxA	79,58	3,32	24	471	5,67395644	3,71E-15	***
<b>Filocrón (°Cd)</b>	Genotipo	9209,38	1151,17	8	86	10,382956	4,61E-10	***
	Ambiente	9937,97	3312,66	3	86	29,8783874	2,49E-13	***
	G x A	6110,16	254,59	24	86	2,29626532	2,76E-03	**

Los valores de E-A fueron mayores y con menor dispersión entre cultivares en siembras tempranas en ambos años (Fig. 2). Algunos genotipos presentaron mayor duración de ciclo durante el año 2017. Solo el cultivar Baronesse no mostró diferencias significativas de ciclo a antesis entre fechas siembras durante el 2016.

Para profundizar en la fenología se evaluó la partición del ciclo en etapas de acuerdo a la ocurrencia de distintos eventos del desarrollo. Para las subfases Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A se detectó interacción G x A (Tabla Anexo 1). Para estas etapas se realizaron los contrastes ortogonales mostrados en la Fig. 3. La subfase E-Z2.1 mostró evidencia fuerte de variación entre ambientes (p < 0,001) y diferencias entre genotipos (p < 0,05), pero no G x A (Tabla Anexo 1).

La reducción del ciclo a floración en épocas de siembra tardía se explica en algunos casos con una menor duración de alguna de las subfases del desarrollo (Fig. 3). Ese acortamiento fue mayor y se verificó en más genotipos en el año 2017. I. Ceibo fue el único que claramente redujo las subfases Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A en el año 2016 (Fig. 3A y 3B), mientras que en el año 2017 también Danuta, E. Quebracho y Prior redujeron estas subfases de manera significativa (Fig. 3C y 3D).

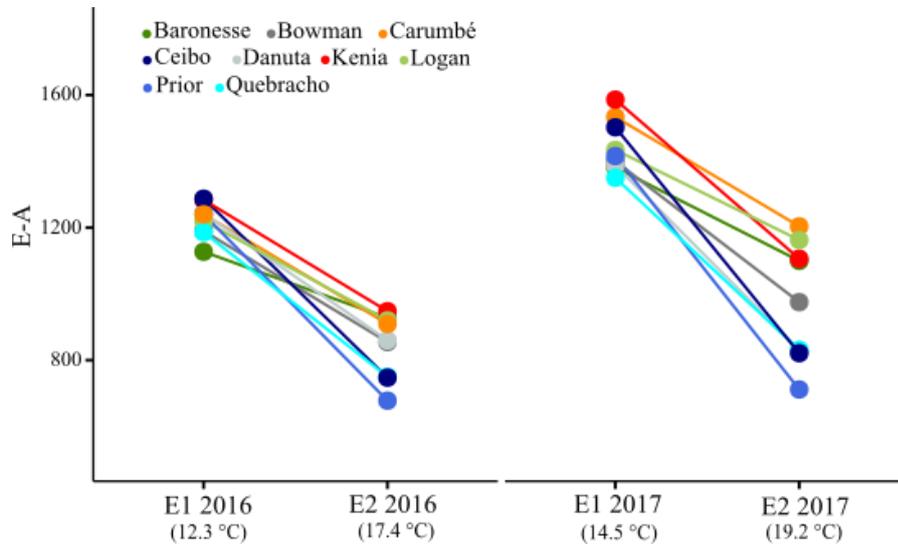


Figura 2. Medias ajustadas para ciclo a antesis (E-A) en grados días (°Cd) para los nueve cultivares en los cuatro ambientes durante los años 2016 y 2017.

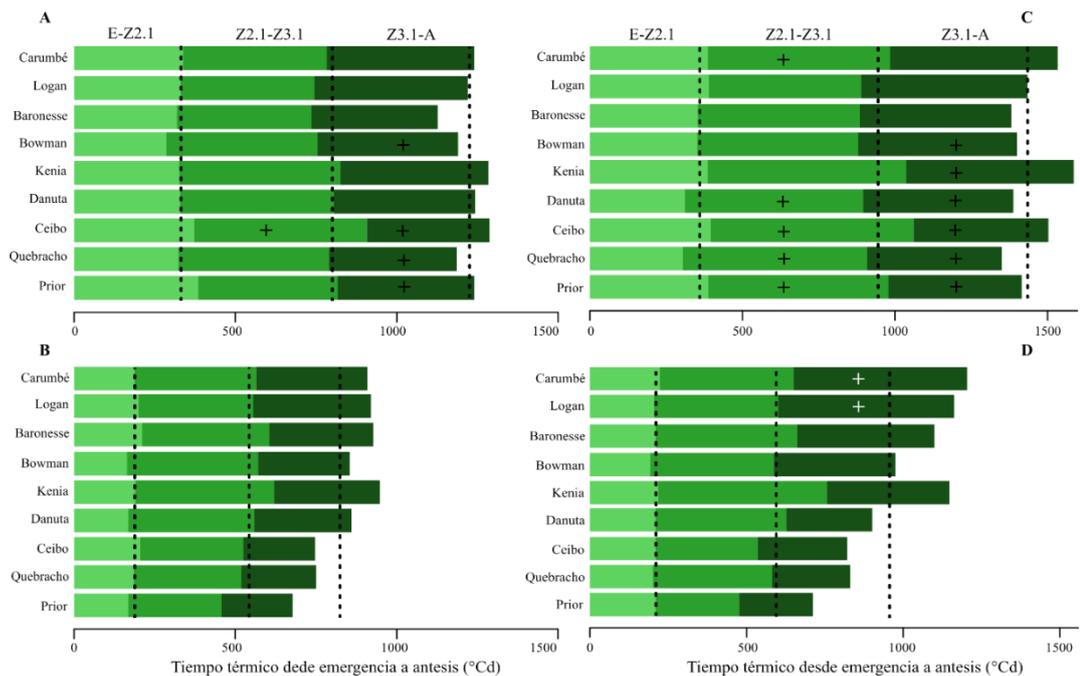


Figura 3. Duración en °Cd de las subfases emergencia-inicio macollaje (E-Z2.1), inicio macollaje-inicio encañado (Z2.1-Z3.1), inicio encañado-antesis (Z3.1-A) para los nueve genotipos en los cuatro ambientes. E1 2016 (A), E2 2016 (B), E1 2017 (C), E2 2017 (D). Signos + negros indican diferencias significativas en contrastes ortogonales para Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A entre distintas fechas de siembra de un mismo año. Signos + blancos indican diferencias significativas en contrastes ortogonales para Z3.1-A entre años. En ambos casos el signo + indica el ambiente de mayor duración de subfase. Líneas punteadas verticales corresponden al valor medio de duración de cada subfase en cada ambiente.

Al contrastar la duración de las subfases entre las mismas épocas de siembra de 2016 y 2017, en la mayoría de los genotipos no aparecieron diferencias significativas. Solo se identificaron contrastes significativos para los cultivares N. Carumbé y Logan en la subfase Z3.1-A en siembra tardía, teniendo mayor duración durante el año más cálido (Fig. 3B y 3D).

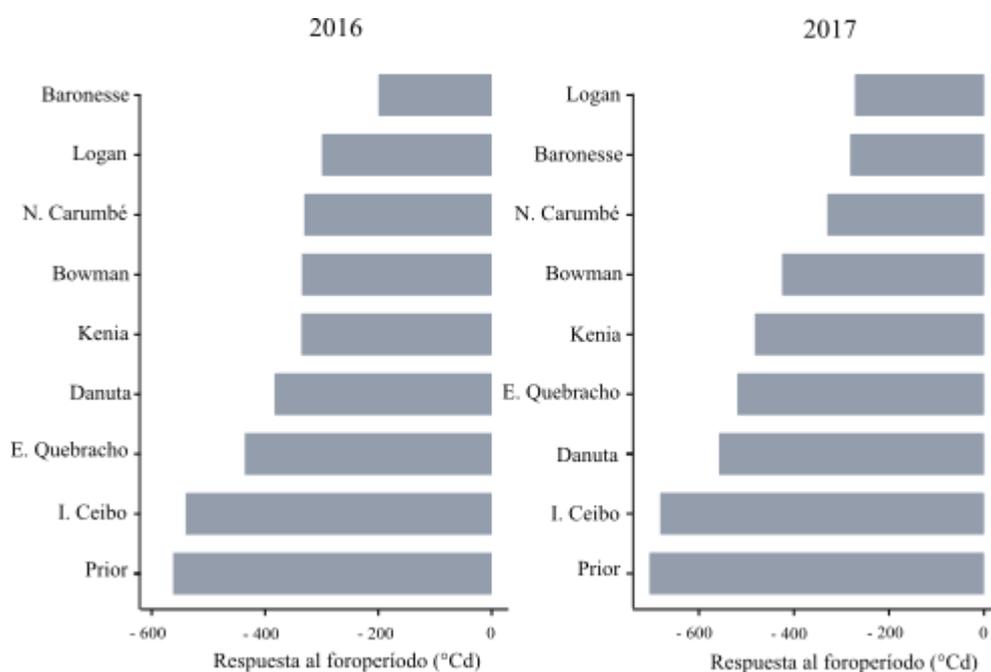


Figura 4. Respuesta al fotoperíodo (E2-E1) en grados días (°Cd) para los nueve cultivares

De acuerdo a su sensibilidad al fotoperíodo (Fig. 4) se pueden distinguir dos grupos de materiales: uno de mayor sensibilidad (integrado por I. Ceibo, Prior, E. Quebracho y Danuta) y otro de menor sensibilidad (formado por N. Carumbé, Logan, Baronesse y Bowman). En ningún caso hubo cambios en el comportamiento entre años. Kenia fue el único cultivar que presentó diferencias en su sensibilidad entre años.

Para identificar los cultivares que mostraron comportamiento diferente entre años para duración E-A, NFH y filocrón se realizaron contrastes ortogonales entre fechas de siembra similares (Tabla 2). Los resultados muestran que en siembras tempranas todos los genotipos desarrollaron más hojas durante el año 2017, pero esto

no necesariamente se tradujo en una mayor duración del ciclo a antesis. Baronesse, N. Carumbé, I. Ceibo, Kenia y Logan tuvieron mayor duración de ciclo a antesis en el ambiente de mayor temperatura en época 1. Aunque el resto de los cultivares no mostró diferencias significativas, la duración también fue mayor. Ninguno de los cultivares mostró diferencias entre años en los valores de filocrón en siembra temprana.

Tabla 2. Contrastes ortogonales entre genotipos para la duración del ciclo a antesis (E-A) en °Cd, número final de hojas (NFH) y filocrón (°Cd) entre siembras tempranas (época 1) y siembras tardías (época 2) de los años 2017 y 2016. Cajas gris oscuro indican contrastes significativos, cajas gris claro indican contrastes no significativos. Números en cajas indican la diferencia entre el año 2017 y 2016, ns = no significativo.

	Época 1			Época 2		
	2017 vs. 2016			2017 vs. 2016		
	E-A	NFH	Filocrón	E-A	NFH	Filocrón
Carumbé	294	1,8	ns	295	ns	ns
Logan	214	2,4	ns	242	1,5	ns
Baronesse	254	1,9	ns	ns	1,1	ns
Kenia	302	1,8	ns	ns	ns	ns
Ceibo	216	1,7	ns	ns	0,9	31,6
Bowman	ns	1,7	ns	ns	1,4	23,4
Quebracho	ns	1,5	ns	ns	1,1	28,5
Prior	ns	1,9	ns	ns	1,3	ns
Danuta	ns	1,3	ns	ns	1,1	ns

También en época tardía, con la excepción de N. Carumbé y Kenia, todos desarrollaron mayor número de hojas durante el 2017. Sin embargo, solo N. Carumbé y Logan, dos cultivares emparentados y de origen similar (Locatelli *et al.*, 2013), tuvieron un ciclo a antesis significativamente más largo. Con respecto al filocrón, tres cultivares tuvieron valores mayores en el año de mayor temperatura y ninguno presentó valores menores en este ambiente.

Filocrón y NFH se correlacionaron negativa y significativamente en épocas tempranas, mientras que no presentaron correlación en épocas tardías (Fig. 5). Por otra parte, E-A se correlacionó positivamente con NFH y filocrón en épocas tardías. En época temprana solo se correlacionó (positivamente) con NFH en un año (2017) y no presentó correlación con filocrón en ninguno de los años.

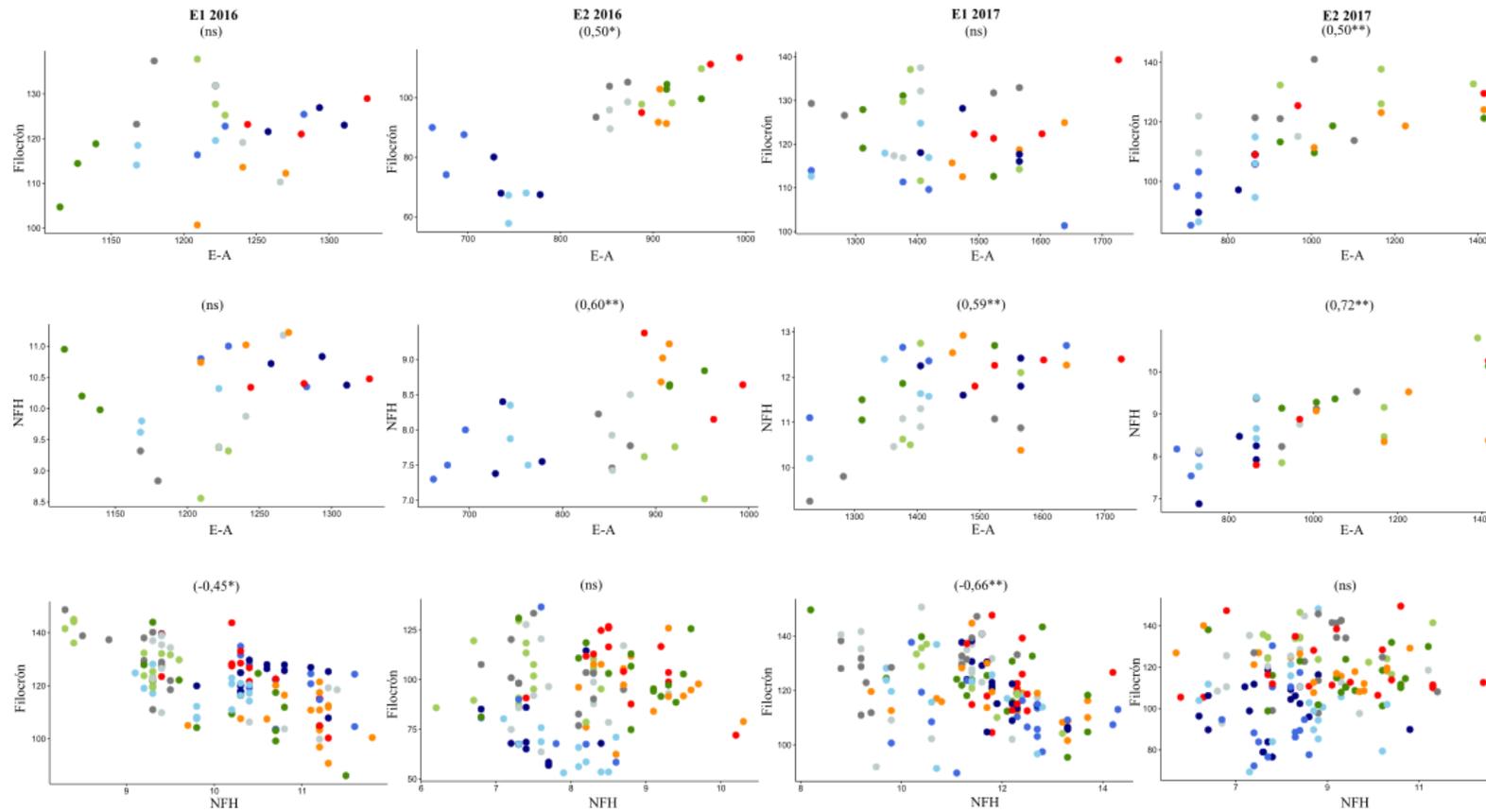


Figura 5. Gráfica de dispersión entre las variables ciclo a antesis (E-A) (°Cd), número final de hojas (NFH) y filocron (°Cd) en siembras tempranas (E1) y siembras tardías (E2) de los años 2016 y 2017. NFH corresponde al dato de la última medición, previo a la aparición de la hoja bandera. Números ( ) indican valor y signo de la correlación. \*\*\* $p < 0,01$ ; \*\* $p < 0,05$ ; ns = no significativo.

● Baronesse, ● Bowman, ● Carumbé, ● Ceibo, ● Danuta, ● Kenia, ● Logan, ● Prior, ● Quebracho

## 2.6. DISCUSIÓN

El cultivo de cebada ocupa un lugar de relevancia dentro de los cultivos de invierno en el Cono Sur de América del Sur, en particular en Uruguay. A partir de la respuesta diferencial de los distintos genotipos a factores como temperatura y fotoperíodo (Boyd *et al.*, 2003), el cultivo ha logrado adaptarse a las condiciones locales preponderantes en un rango muy amplio de ambientes.

Con el objetivo de aportar información sobre la fenología del cultivo de cebada, en particular el número de hojas y el filocrón, y su relación con la duración del ciclo y sus subfases, hemos trabajado con un conjunto reducido (9) de genotipos con diferente sensibilidad al fotoperíodo. Estos genotipos se han utilizado como parentales en los programas de mejoramiento o tienen ancestros presentes en el pedigrí de variedades locales (Locatelli *et al.*, 2013). Para el objetivo mencionado, se evaluaron la fenología y otros rasgos asociados, como hojas desarrolladas y la tasa de aparición de estas, en ambientes contrastantes, definidos por los años y fechas de siembra. A partir de la información generada, se identificaron variaciones fenotípicas de interés acerca de la respuesta de estos genotipos a las condiciones de Uruguay.

El genotipo, el ambiente y su interacción resultaron tener efectos significativos para las variables duración de ciclo a antesis, NFH y filocrón (Tabla 1). Estas variaciones, importantes desde el punto de vista de la adaptación del cultivo, evidencian las respuestas diferenciales de los genotipos frente a condiciones ambientales diferentes (definidas por el año considerado o el momento de siembra), siendo fotoperíodo y temperatura los factores determinantes. En particular, debe destacarse que los dos años analizados presentaron diferencias de temperatura relevantes.

### 2.6.1 Duración del ciclo a antesis

El ciclo a antesis y las subfases del desarrollo tuvieron mayor duración en siembras tempranas, lo que asociamos a días más cortos y temperaturas menores en dichos ambientes. En nuestras condiciones, siembras de junio se consideran adecuadas para el desarrollo de la cebada (Locatelli *et al.*, 2022, Castro *et al.*, 2008), mientras

que las siembras tardías limitan los ciclos y esto afecta el rendimiento potencial (González y Xavier, 2000).

En los dos años analizados la siembra tardía tuvo ciclos a floración más cortos en relación con las siembras tempranas (Fig. 2), con variaciones en el grado de reducción del ciclo entre cultivares. Esas diferencias no están explicadas en todos los casos por la reducción de alguna subfase en particular. Solo un grupo de cultivares, en general los de mayor sensibilidad al fotoperíodo, redujeron la etapa inicio de macollaje-inicio de encañado, la de encañado-antesis o ambas de manera significativa (Fig. 3).

La comparación de fechas de siembra similares, entre años, mostró un resultado un tanto inesperado: en el año de mayor temperatura promedio (2017), el ciclo a floración fue mayor, en tiempo térmico acumulado, en cinco genotipos en época 1 y en dos en época 2 (Tabla 2). Sin embargo, esas diferencias no están necesariamente explicadas por diferencias entre las subfases (Fig. 3). La diferencia detectada para E-A y no para las subfases se asocia a que E-A representa la suma de las duraciones de las distintas subfases evaluadas, lo que maximiza las diferencias. Solo Logan y N. Carumbé mostraron mayor duración en la subfase inicio encañado-antesis en fecha tardía del año 2107 (Fig. 3). Esto es coincidente con Ochagavía *et al.* (2022), que indican que ambientes de alta temperatura alargan consistentemente la subfase Z3.1-Z4.9. En siembra temprana no aparecen diferencias significativas entre años para ninguna de las etapas del desarrollo.

Los 5 cultivares que tuvieron ciclos más largos el año de mayor temperatura en las siembras tempranas fueron I. Ceibo, N. Carumbé, Baronesse, Logan y Kenia, con diferencias que oscilaron entre 214 y 302 °Cd entre los dos años. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, se comportaron en forma similar en siembras tardías, N. Carumbé y Logan, para los que la duración fue 295 °Cd y 242 °Cd mayor, respectivamente (Tabla 2). A pesar de que estamos fuera del rango de siembra convencional del cultivo en estas latitudes, donde fotoperíodos superiores a 12 h inducen el acortamiento del ciclo, y que el año 2017 presentó una mayor temperatura, estos dos materiales, poco sensibles y emparentados (Locatelli *et al.*, 2013), retrasaron

el momento a floración. De este grupo de materiales solo I. Ceibo es considerado sensible al fotoperíodo.

En general, un incremento de temperatura se traduce en un acortamiento del ciclo (Slafer *et al.*, 2015, Abeledo *et al.*, 2004, Boyd *et al.*, 2003, González y Xavier, 2000). Sin embargo, diferentes trabajos aportan evidencia que bajo ciertas condiciones esto podría no ocurrir. Rawson y Richards (1993) indican que el momento de anthesis se ve retrasado por altas temperaturas en diferentes fotoperíodos, mientras que Slafer y Rawson (1994) en trigo indican que el período hasta formación de espiguilla terminal (Z3.0) se reduce con temperaturas entre 10 °C y 19 °C, pero se extiende entre 19 °C y 25 °C.

También Slafer y Rawson (1996) con los mismos cultivares reportan que la sensibilidad al fotoperíodo y el fotoperíodo óptimo cambian con la temperatura en cada etapa del desarrollo y esto varía con el genotipo, proponiendo que no se deberían extrapolar los parámetros de respuesta al fotoperíodo de una temperatura a otra, algo similar a lo que ocurre con la interacción fotoperíodo y el nivel de satisfacción de la vernalización en la duración de las etapas preanthesis (González *et al.*, 2002).

Karsai *et al.* (2013), estudiando diferentes grupos de cebadas y trigos, identifican que para cebadas de hábito primaveral, tanto la duración hasta inicio de encañado como la duración del ciclo es mayor en grados días con aumento de temperaturas, en condiciones controladas para 13 °C, 16.5 °C, 18 °C y 23 °C. Por otro lado Ejaz y von Korff (2017) indican que ambientes de alta temperatura (20 °C-16 °C vs. 28 °C-24 °C) retrasan la floración al existir represión, independientemente del genotipo, sobre el integrador floral FLOWERING LOCUS T1, que en cebada se conoce como *HvFT1* o *Vrn-3*.

En el mismo sentido, Hemming *et al.* (2012) indican que tanto en trigo como en cebada el estado reproductivo se alcanza más rápido durante días largos y altas temperaturas (15 °C vs. 25 °C), pero en escenarios de días cortos las altas temperaturas retrasan los estados reproductivos tempranos (aparición de doble arruga). Hay que tener en cuenta que esas temperaturas altas que retrasan los estados reproductivos tempranos podrían, por otro lado, acelerar el desarrollo en estadios más tardíos (doble arruga-espiguilla terminal). Los antecedentes mencionados utilizan temperaturas

constantes y en algunos casos muy superiores (28 °C-24 °C día/noche, Ejaz y von Korff, 2017, 25 °C, Hemming *et al.*, 2012) a las medias mencionadas en el presente trabajo (17,4 °C en 2016 y 19,2 °C en 2017, en fechas de siembra tardía), pero las observaciones detalladas podrían ser un indicio de la situación ocurrida en los ensayos de campo durante los dos años. Se puede considerar también que en 2017 se generó un retraso en el desarrollo porque se superó la temperatura óptima. Si bien algunos trabajos reportan ese valor en el entorno de los 20-22 °C para cebada, no hay evidencia en las condiciones locales que permitan afirmarlo.

### 2.6.2 Número final de hojas y filocrón

Los contrastes ortogonales para NFH y filocrón, entre épocas de siembra equivalentes (Tabla 2), muestran algo parecido a lo señalado para E-A en el sentido de que los genotipos alcanzaron un NFH mayor durante el año 2017 en siembras tempranas (10,5 vs. 12,5, promedio), y siete de ellos en siembras tardías (8,4 vs. 9,6, promedio); mientras que el valor del filocrón fue mayor en la época tardía del año más cálido en los cultivares Bowman, E. Quebracho e I. Ceibo (23,4 °Cd, 28,5 °Cd y 31,6 °Cd, respectivamente). Es de destacar que en ningún caso ocurrió un filocrón significativamente mayor el año de menor temperatura promedio al contrastar siembras similares.

Frank y Bauer (1997) en trabajos con cebada primaveral indican que, cuando hay grandes diferencias de temperatura, el estado doble arruga se alcanza antes (en términos de número de hojas) con temperaturas menores: 3 hojas visibles para 18 °C y 3,9 para 26 °C. Hemming *et al.* (2012) observan que en fotoperíodos cortos y temperaturas de 25 °C el estado de desarrollo del ápice es menor que con 15 °C.

Considerando que el cambio de ápice vegetativo a reproductivo está determinado por la interacción genotipo-ambiente, fijando el número de hojas que se van a desarrollar en el tallo principal (Hay y Ellis, 1998), y que particularmente en fotoperíodos cortos el NFH está asociado a la duración de la etapa vegetativa (Pérez-Gianmarco *et al.*, 2018), podríamos esperar un mayor NFH cuando la etapa mencionada es de mayor duración.

Además, Kirby (1990) propone que la tasa de iniciación de primordios de hojas es constante y en promedio se generan 1,7 primordios por cada hoja emergida, mientras que Brooking y Jamieson (2002) establecen un valor de 1,9 en condiciones plenas de inducción.

En el presente trabajo existió interacción genotipo x ambiente (Tabla Anexo 1) y diferencias para número de hojas a Z3.1 entre los dos años en siembras tempranas (datos de contrastes ortogonales no mostrados). El año 2017 presentó más hojas desarrolladas en ese momento del ciclo del cultivo, que puede ser un indicio de mayor duración de ciclo asociado a mayor número de hojas en etapas reproductivas tempranas (Jamieson *et al.*, 2007, Kirby, 1990), que es consistente con la correlación detectada en esas condiciones. Por lo tanto, un aumento de temperatura implicaría alcanzar el estado de doble arruga más tarde y, asumiendo que la tasa de formación es constante, se puede especular con que existió una mayor formación de primordios foliares previo al pasaje del ápice vegetativo a reproductivo durante el año 2017; aunque la duración de la subfase E-Z2.1 no presentó interacción G x A (Tabla Anexo 1), la tendencia es que dicha subfase fue más larga en el año de mayor temperatura promedio.

En cuanto a la tasa de aparición de hojas, es de esperar que sea mayor en siembras tardías, coincidiendo con fotoperíodos más largos (Miralles *et al.*, 2007, González y Xavier, 2000, Kernich *et al.*, 1995) y un aumento de temperaturas que modifiquen el filocrón y la duración del ciclo y sus subfases (Abeledo *et al.*, 2004, Wilhelm y McMaster, 1995).

Sin embargo, en el trabajo mencionado de Frank y Bauer (1997) indican que pasar de 18 °C a 26 °C produce filocrones mayores que un cambio a la inversa. Slafer y Rawson (1995) indican que las tasas de aparición de hojas a temperaturas superiores a 25 °C son menores que a temperaturas entre 19-22 °C, estableciendo un óptimo para el cultivo en 22 °C. Una disminución en la tasa de aparición de hojas con temperaturas en aumento (y constantes) y fotoperíodos de 14 horas se describe en Cao y Moss (1989) y es compartido por Tamaki *et al.* (2002). También Karsai *et al.* (2013) reporta filocrones mayores con el aumento de la temperatura y, de acuerdo a Ochagavía *et al.* (2022), la variación en el filocrón está más afectada por la temperatura que por los

genotipos y además la sensibilidad del filocrón es distinta entre genotipos a partir de diferentes temperaturas óptimas máximas para aparición de hoja (Cao y Moss, 1989).

### 2.6.3 Relación entre ciclo a antesis, NFH y filocrón

De acuerdo al análisis entre variables (Fig. 5), en las siembras tempranas, el NFH y el filocrón se correlacionan negativamente y son independientes de la duración del ciclo a antesis, con la excepción de NFH en E1 2017 que se correlacionó positivamente con el ciclo. La correlación negativa y la independencia de NFH y filocrón con E-A podría estar reflejando la diversidad de los genotipos expresados en un ambiente de día corto, donde la diferenciación en la respuesta de cultivares con distinta sensibilidad al fotoperíodo puede no estar del todo reflejada o solaparse.

Varios trabajos evidencian este tipo de asociación. Borrás et al. (2009) indican correlación negativa entre NFH y filocrón en siembras de invierno; en siembras correspondientes a temporadas cortas pero frías. Dofing (1999) detectó la misma asociación: para todas las combinaciones de genotipo x fotoperíodo también fue reportada por Pérez-Gianmarco *et al.* (2018), esta vez en trigo, pero mencionan que, al separar por fotoperíodos (largos y cortos), aparece independencia entre filocrón y NFH.

En lo que refiere a la asociación entre E-A y NFH para el conjunto de los genotipos en E1 2017, esta puede deberse a que el rango del NFH fue mayor en este ambiente, mientras que las variaciones en el filocrón se mantuvieron aproximadamente en los mismos niveles (rango de 30 °Cd) durante los dos años en siembras tempranas (Fig. 5). Tal vez esto pueda estar explicando en parte porque el NFH aparece asociado al ciclo en este ambiente, y es este rasgo el que determina el ajuste del ciclo cuando no se detectan cambios significativos en el filocrón. Una apreciación similar, pero con la tasa de aparición de hojas explicando el ajuste fino del momento a antesis, se describe en Pérez-Gianmarco *et al.* (2018), también en fotoperíodos cortos.

En las siembras tardías ocurrió un cambio en la asociación: no existió correlación entre filocrón y NFH, que aparecen independientes, pero ambas variables se correlacionaron positivamente con el ciclo a antesis. Esta asociación puede estar determinada, en parte, por la respuesta diferencial de los cultivares que establecen

algunas tendencias (Fig. 5). Los resultados indican que en ambientes de fotoperíodo más largo y temperatura más alta, determinados por la fecha de siembra tardía, las hojas desarrolladas y su tasa de aparición dependieron de la duración del ciclo.

Esta correlación entre ciclo y filocrón ya había sido identificada en trabajos anteriores, también en siembras tardías, solo en cultivares sensibles al fotoperíodo (Mastandrea, 2015). Paynter *et al.* (2003), con cebadas primaverales en condiciones de día corto y de día largo, detectaron correlación positiva entre filocrón y aparición de aristas (antes de la siembra) y entre NFH y Z4.9, sobre todo en ambientes de día largo.

También se describe esta asociación en Ochagavía *et al.* (2022), quienes, con fotoperíodos de 16 h y temperaturas de 18 °C y 25 °C, mencionan correlación entre NFH y filocrón con el ciclo a antesis (con valores mayores para la correlación con filocrón). Pérez-Gianmarco *et al.* (2018) detectaron que NFH mostró correlación alta y positiva con emergencia-hoja bandera (rasgo muy asociado con duración E-A) en fotoperíodos largos (16 h) y cortos (12 h) y Borrás *et al.* (2009) indican que el período a antesis correlaciona positivamente con NFH y filocrón y con este último la asociación es mayor.

De acuerdo con González *et al.* (2002), cuando el NFH es bajo (menor a 8), el filocrón responde a una relación lineal robusta; pero, cuando el fotoperíodo es corto o los requerimientos de vernalización no son satisfechos, esa relación se rompe. Los autores argumentan que los efectos del fotoperíodo y la vernalización sobre la dinámica de emergencia de las hojas podrían ser indirectos y mediados por el número final de hojas diferenciadas en el ápice.

Nuestros resultados muestran que, bajo fotoperíodos largos, cuando el número de hojas desarrolladas es bajo, para el conjunto de los cultivares se establece una relación lineal en función del tiempo térmico acumulado. Sin embargo, en siembras tempranas esa relación se pierde y la asociación con el ciclo no es evidente.

Más allá del efecto del fotoperíodo, el efecto o la interacción de la temperatura surge como un factor de relevancia, ya que ante fotoperíodos similares se observa un cambio en la tasa de aparición de hojas. En algunos genotipos disminuye y en otros no promueve filocrones más chicos. También el aumento de la temperatura se encuentra

asociada a un mayor número de hojas en todos los materiales, ocurriendo ciclos a antesis más largos.

Este trabajo buscó aportar al conocimiento de los factores ambientales que modulan el desarrollo y la fenología del cultivo de cebada en Uruguay. Si tenemos en cuenta que los rendimientos de cebada se verán afectados por altas temperaturas, al punto que por cada 1 °C de aumento se pierde hasta 6 % de rendimiento (Jacott y Boden, 2020), en un escenario de calentamiento global surge como algo relevante conocer el funcionamiento de diferentes genotipos y cómo las condiciones ambientales junto con el trasfondo genético afectan el desarrollo del cultivo de cebada.

## **2.7. CONCLUSIONES**

Algunos cultivares, principalmente aquellos con poca sensibilidad al fotoperíodo, tuvieron ciclos a floración más largos el año de mayor temperatura promedio, sobre todo en siembra temprana.

En siembra temprana, todos los cultivares desarrollaron más hojas en el tallo principal el año de mayor temperatura promedio, lo mismo ocurrió en siembra tardía para la mayoría de los cultivares.

Los valores de filocrón fueron iguales en fechas de siembra temprana para todos los materiales, y se obtuvieron valores mayores para algunos de los cultivares durante la siembra tardía del año 2017, indicando que un ambiente más cálido podría generar que las hojas formadas tengan, en algunas circunstancias, tasas de aparición más lentas o al menos que no se acelere su tasa.

Para el conjunto de los cultivares, en siembras tardías, existió correlación positiva entre la duración del ciclo a antesis y el NFH y el valor del filocrón, mientras que las siembras tempranas mostraron una relación negativa entre el NFH y el filocrón.

## 2.8. BIBLIOGRAFÍA

- Abeledo, L.G., Calderini, D.F., and Slafer, G.A. 2004. Leaf appearance, tillering and their coordination in old and modern barleys from Argentina. *Field Crops Research*, 86: 23-32.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B.M., and Walker, S.C. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw*, 67: 1–48.
- Borras, G., Romagosa, I., van Eeuwijk, F., and Slafer, G.A. 2009. Genetic variability in duration of pre-heading phases and relationships with leaf appearance and tillering dynamics in a barley population. *Field Crops Research*, 113: 95–104.
- Boyd, W.J.R., Li, C., Grime, C., Cakir, M., Potipibool, S., Kaveeta, L., Men, S., Jalal Kamali, M., Barr, A., Moody, D., Lance, R., Logue, S., Raman, H., and Read, B.J. 2003. Conventional and molecular genetic analysis of factors contributing to variation in the timing of heading among spring barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes grown over a mild winter growing season. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54: 1277- 1301.
- Brooking, I.R., and Jamieson, P.D. 2002. Temperature and photoperiod response of vernalization in near-isogenic lines of wheat. *Field Crops Research* 79: 21-38.
- Cao, W., and Moss, D.N. 1989. Temperature effect on leaf emergence and phyllochron in wheat and barley. *Crop Science*, 29: 1018-1021.
- Castro, A.J., Cuesta-Marcos, A., Hayes, P.M., Locatelli, A., Macaulay, M., Mastandrea, N., Silveira, M., Thomas, W.T.B., and Viega, L. 2017. The completely additive effects of two barley phenology related genes (*eps2S* and *sdw1*) are explained by specific effects at different periods within the crop growth cycle. *Plant Breeding*, 1–8.
- Castro, A.J., Hayes, P., Viega, L., and Vales, I. 2008. Transgressive segregation for phenological traits in barley explained by two major QTL alleles with additivity. *Plant Breeding*, 127: 561-568.

- DIEA. Estadísticas Agropecuarias. 2022. Encuesta Agrícola «Primavera 2022». [En línea]. 18 diciembre 2023. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/noticias/diea-presenta-resultados-encuesta-agricola-primavera-2022>
- Dofing, S.M. 1999. Inheritance of Phyllochron in Barley. *Crop Science*, 39, 334-337.
- Ejaz, M., and von Korff, M. 2017. The Genetic Control of Reproductive Development under High Ambient Temperature. *Plant Physiology*, 173: 294-306.
- Frank, A.B., and Bauer, A. 1997. Temperature effects prior to double ridge on apex development and phyllochron in spring barley. *Crop Science*, 37:1527-1531.
- Frank, A.B., and Bauer, A. 1995. Phyllochron Differences in Wheat, Barley, and Forage Grasses. *Crop Science*, 35: 19-23.
- González, F.G., Slafer, G., and Miralles, D. 2002. Vernalization and photoperiod responses in wheat pre-flowering reproductive phases. *Field Crops Research*, 74: 183-195.
- González, S., y Xavier, A. 2000. Definición del número de hojas por tallo y del número de granos por espiga en cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.). Tesis de grado. Facultad de Agronomía. Universidad de la República, Uruguay.
- Haun, J.R. 1973. Visual quantification of wheat development. *Agronomy Journal*, 65: 116-119.
- Hay, R.K.M., and Ellis, R.P. 1998. The Control of Flowering in Wheat and Barley: What Recent Advances in Molecular Genetics Can Reveal. *Annals of Botany*, 82: 541-554.
- Hemming, M.N., Walford, S.A., Fieg, S., Dennis, E.S., and Trevaskis, B. 2012. Identification of High-Temperature-Responsive Genes in Cereals. *Plant Physiology*, 158: 1439-1450.
- Hemming, M.N., Peacock, W.J., Dennis, E.S., and Trevaskis, B. 2008. Low-temperature and daylength cues are integrated to regulate FLOWERING LOCUS T in barley. *Plant Physiology*, 147: 355-366.

- Jacott, C.N., and Boden. S.A., 2020. Feeling the heat: developmental and molecular responses of wheat and barley to high ambient temperatures. *Journal of Experimental Botany*, 71: 5740–5751.
- Jamieson, P.D., Brooking, I.R., Semenov, M.A., McMaster, G.S., White J.W., and Porter, J.R. 2007. Reconciling alternative models of phenological development in winter wheat. *Field Crops Research*, 103: 36–41.
- Karsai, I., Igartua, E., Casas. A.M., Kiss, T., Soós, V., Balla, K., Bedo, Z., and Veisz, O. 2013. Developmental patterns of a large set of barley (*Hordeum vulgare*) cultivars in response to ambient temperature. *Annals of Applied Biology*, 162: 309-323.
- Kernich, G.C., Slafer, G.A., and Halloran, G.M. 1995. Barley development as affected by rate of change of photoperiod. *Journal of Agricultural Science*, 124: 379-388.
- Kirby, E.J.M. 1990. Co-ordination of leaf emergence and leaf and spikelet primordium initiation in wheat. *Field Crops Research*, 25: 253-264.
- Kirby, E.J.M., and Apleyard, M. 1981. Cereal development guide. A. Barron (Ed.). National Agricultural Center, Kenilworth, England. Cereal Unit.
- Locatelli, A., Bhatta, M., Gutiérrez, L., Mastandrea, N., Viega, L., and Castro, A.J. 2022. Genetic control of barley phenology in South American environments. *Euphytica*, 218:53. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-02993-2>.
- Locatelli, A., Cuesta-Marcos. A., Gutiérrez, L., Hayes, P.M., Smith, K.P., and Castro, A.J. 2013. Genome-wide association mapping of agronomic traits in relevant barley germplasm in Uruguay. *Molecular Breeding* 31: 631–654.
- Mastandrea N. 2015. Variabilidad en la duración de los ciclos y sub fases dentro del germoplasma de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) utilizado en Uruguay. Tesis grado. Licenciatura en Ciencias Biológicas. Montevideo, Uruguay. Facultad de Ciencias.
- Miralles, D.J., González, F.G., Abeledo, L.G. Serrago, R.A., Alzueta, I, García, G.A., San Celedonio, R.P., y Lo Valvo, P. 2014. Manual de trigo y cebada para el cono sur: procesos fisiológicos y bases de manejo. 1.a edición. Buenos Aires. Orientación Gráfica Editora.

- Miralles, D.J., Spinedi, M.V., Abeledo, L.G., and Abelleira, D. 2007. Variability on photoperiod responses in argentinean wheat cultivars differing in length of crop cycle. p. 599-609. En H.T. Buck, J.E. Nisi, N. Salomón (eds.). Proceedings of the 7th International Wheat Conference. Mar del Plata, Argentina.
- Molina Cano, J. L. 1989. La cebada. Morfología, fisiología, genética, agronomía y usos industriales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Ochagavía, H., Kiss, T., Karsai, I., Casas, A.M., and Igartua, E. 2022. Responses of barley to high ambient temperature are modulated by vernalization. *Frontiers in Plant Science*, 12:776982.
- Ochagavía, H., Prieto, P., Savin, R., Griffiths, S., and Slafer, G.A. 2017. Duration of developmental phases, and dynamics of leaf appearance and tillering, as affected by source and doses of photoperiod insensitivity alleles in wheat under field conditions. *Field Crops Research*, 214: 45–55.
- Pérez-Gianmarco, T.I., Slafer, A.G., and González, F.G. 2018. Wheat pre-anthesis development as affected by photoperiod sensitivity genes (Ppd-1) under contrasting photoperiods. *Functional Plant Biology*, 45: 645–657.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Core Team.
- Rawson, H.M., and Richards, R.A. 1993. Effects of high temperature and photoperiod on floral development in wheat isolines differing in vernalisation and photoperiod genes. *Field Crops Research*, 32: 181-192.
- Russell L. 2019. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.4.3.01,
- Slafer, G.A., and Rawson, H.M. 1994. Does temperature affect final numbers of primordia in wheat? *Field Crops Research*, 39: 111-117.
- Slafer, G.A., and Rawson, H.M. 1995. Rates and Cardinal Temperatures for Processes of Development in Wheat: Effects of Temperature and Thermal Amplitude. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22: 913-926.
- Slafer, G.A., and Rawson, H.M. 1996. Responses to photoperiod change with phenophase and temperature during wheat development. *Field Crops Research*, 46: 1-13.

- Slafer, G.A., and Rawson, H.M. 1997. Phyllochron in wheat as affected by photoperiod under two temperature regimes. *Australian Journal of Plant Physiology*, 24: 151-158.
- Slafer GA. 2003. Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Annals of applied Biology* 142: 117-128.
- Slafer, G.A., Kantolic, A.G., Appendino, M.L., Tranquilli, G., Miralles, D.J., and Savin, R. 2015. Genetic and environmental effects on crop development determining. p. 285-319. En V.O. Sadras, D. F. Caldeirini (eds.), *Adaptation and yield Crop, Physiology Applications for Genetic Improvement and Agronomy*. Elsevier.
- Tamaki, M., Kondo, S., Itani, T., and Goto, I. 2002. Temperature responses of leaf emergence and leaf growth in barley. *Journal of Agricultural Science*, 138: 17-20.
- Viega, L., Hoffman, E., González, S., y Olivo, N. 2005. Potencial de producción de cebada cervecera en Uruguay. Definición del número de granos por espiga. Facultad de Agronomía, Nota Técnica n.o 52, Montevideo.
- Waddington, S.R., Cartwright, P.M., and Wall, P.C. 1983. A Quantitative Scale of Spike Initial and Pistil Development in Barley and Wheat. *Annals of Botany Company*, 51: 119-130.
- Wilhelm, W.W., and McMaster, G.S. 1995. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. *Crop Science*, 35,:1-3.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., and Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14: 415-421.

## 2.9. ANEXO

Tabla Anexo 1. Análisis de varianza para las variables ciclo a antesis (E-A) (°Cd), número final de hojas (NFH), filocrón (°Cd), E-Z2.1 (°Cd), Z2.1-Z3.1 (°Cd), Z3.1-A (°Cd), NH<sub>Z3.1</sub> (número de hojas en el estado Z3.1). F.D.V = fuente de variación; S. S. = suma de cuadrados; M. S. = cuadrado medio; Num.DF = grados de libertad; Den.DF = ; F\_val = valor de F; Pr (>Fval) = nivel significancia; \*\*\*= p < 0,001; \*\*= p < 0,01; \*= p < 0,05; ns = no significativo. G x A = interacción.

Variable	F. D. V.	S. S.	M. S.	Num.DF	Den.DF	F_val	Pr(>Fval)	
<b>E-A (°Cd)</b>	Genotipo	667721,44	83465,18	8	78	11,7187575	8,51E-11	***
	Ambiente	1201297,18	400432,39	3	9,9	56,2218892	1,59E-06	***
	G x A	713546,12	29731,09	24	78	4,17433252	8,54E-07	***
<b>NFH</b>	Genotipo	89,76	11,22	8	471	19,1981846	4,71E-25	***
	Ambiente	1050,22	350,07	3	471	599,026231	2,68E-160	***
	G x A	79,58	3,32	24	471	5,67395644	3,71E-15	***
<b>Filocrón (°Cd)</b>	Genotipo	9209,38	1151,17	8	86	10,382956	4,61E-10	***
	Ambiente	9937,97	3312,66	3	86	29,8783874	2,49E-13	***
	G x A	6110,16	254,59	24	86	2,29626532	2,76E-03	**
<b>E-Z2.1 (°Cd)</b>	Genotipo	31210,46	3901,31	8	80	2,31026549	2,78E-02	*
	Ambiente	129810,5	43270,17	3	10	25,6236123	5,20E-05	***
	G x A	35925,72	1496,91	24	80	0,8864333	6,18E-01	ns
<b>Z2.1-Z3.1 (°Cd)</b>	Genotipo	151929,23	18991,15	8	80	3,90061805	6,28E-04	***
	Ambiente	186679,24	62226,41	3	10	12,7807649	9,33E-04	***
	G x A	207891,58	8662,15	24	80	1,7791302	2,98E-02	*
<b>Z3.1-A (°Cd)</b>	Genotipo	404942,45	50617,81	8	77,7	14,4288238	1,10E-12	***
	Ambiente	261517,94	87172,65	3	9,6	24,8489383	7,60E-05	***
	G x A	204940,73	8539,2	24	77,7	2,43413494	1,74E-03	**
<b>NH<sub>Z3.1</sub></b>	Genotipo	105,64	13,2	8	533,1	26,3546048	2,00E-34	***
	Ambiente	567,32	189,11	3	531,6	377,423259	2,93E-131	***
	G x A	44,35	1,85	24	533	3,68833187	1,63E-08	***

### **3. DETERMINACIÓN DE LOS COMPONENTES GENÉTICOS QUE DEFINEN LA FENOLOGÍA Y VARIABLES ASOCIADAS EN UNA POBLACIÓN RIL DE CEBADA CERVECERA (*HORDEUM VULGARE* L.)**

Nicolás Mastandrea<sup>1</sup>, Ariel Castro<sup>2</sup>, Gastón Quero<sup>1</sup>, Luis Viega<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

<sup>2</sup>Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay

#### **3.1. RESUMEN**

El momento de antesis es un factor clave en el desarrollo del cultivo de cebada que condiciona el rendimiento potencial. Para analizar factores genéticos y ambientales que afectan los eventos preantesis, el número final de hojas (NFH) y su tasa de aparición, se utilizó una población RIL de cebada obtenida a partir de la cruce de dos cultivares (Norteña Carumbé e INIA Ceibo) con fenología contrastante. La población presentó segregación transgresiva para subfases y ciclo, para respuesta al fotoperíodo, NFH y filocrón. El año 2017 presentó mayor temperatura promedio y la población tuvo mayor duración de sus subfases y mayor NFH en las dos épocas de siembra y un mayor valor de filocrón en la época tardía. Mediante análisis de QTL se detectaron nueve regiones con efecto para ciclo a antesis y sus subfases, para respuesta al fotoperíodo, NFH, filocrón y altura de planta, en los cromosomas 1H, 2H, 3H, 6H y 7H. Para fenología, NFH y filocrón los efectos detectados en 2H se expresan sobre todo en ambientes tardíos y es el parental N. Carumbé quien aporta el alelo de mayor valor. Para E-A, Z2.1-Z3.1 y NFH en 3H se identificó asociación en siembras tempranas y es el parental I. Ceibo el que aporta el alelo de mayor valor. En estos cromosomas, los QTL coinciden con regiones donde se han identificado los genes *Ppd-H1* y *sdw1*. Se destaca como novedoso el QTL para filocrón en el 6H así como también los que aparecen asociados a NFH.

**Palabras claves:** cebada cervecera, QTL, fenología, NFH, filocrón

### 3.2. ABSTRACT

Time to anthesis is a key factor in barley development as it determines yield potential. To analyze the genetic and environmental factors that determine pre-anthesis events, the final leaf number (FLN) and their appearance rate, a barley RIL population obtained for the cross between two varieties with contrasting phenology (Norteña Carumbé and INIA Ceibo) was used. The population showed transgressive segregation for the different sub-phases of development, anthesis date, photoperiod response, FLN and phyllochron. The year 2017 had a higher average temperature and the population had longer duration of its sub-phases and higher FLN in the two sowing times and higher phyllochron in the late planting time. Using QTL analysis, nine genomic regions with QTL effects for length of the anthesis cycle, its sub-phases, photoperiod response, FLN, phyllochron and plant height, on chromosomes 1H, 2H, 3H, 6H and 7H were detected. The QTL detected on 2H was identified mainly in late sowing times and is the parental N. Carumbé who provides the allele with greater value, while the QTL detected on 3H was identified in early sowing times with I. Ceibo providing the allele of greatest value. On these chromosomes the QTL coincide in regions where *Ppd-H1* and *sdw1* have been identified. The QTL for phyllochron in 6H stands out as novel, as well as those that appear associated with FLN.

**Key words:** malting barley, QTL, phenology, NFH, phyllochron

### 3.3. INTRODUCCIÓN

La fenología de un cultivo puede definirse como la sucesión de las etapas del desarrollo, las cuales definen fases y son influenciadas por variaciones climáticas (Mc Master, 2018). La comprensión de los factores del ambiente, del crecimiento y del desarrollo de los cultivos puede aportar a la optimización del mejoramiento genético del cultivo (Richards, 1991). La duración de las etapas fenológicas junto con el momento en el que ocurren afecta el rendimiento potencial de los cultivos (Castro *et al.*, 2017), por eso, el ajuste y manejo apropiado de los ciclos son claves para maximizar el rendimiento y la adaptación de un cultivar a un ambiente (Fernández-Calleja *et al.*, 2021, Castro *et al.*, 2008).

Las necesidades de los productores sumadas a las exigencias de la industria requieren el desarrollo de cultivares de cebada con alta calidad maltera, mayor rendimiento potencial y con capacidad de adaptarse a retrasos en la fechas de siembra (Verocai, 2021), propias del modelo de laboreo, y la intensificación en el uso de los suelos vigente (Andrade y Satorre, 2015).

Por lo mencionado anteriormente, el tiempo a antesis es clave en la adaptación y es un rasgo fuertemente controlado por una red genética que responde principalmente al fotoperíodo y la temperatura (Fernández-Calleja *et al.*, 2021). *Ppd-H1* y *Ppd-H2* han sido identificados como los principales genes de respuesta al fotoperíodo (Turner *et al.*, 2005, Laurie *et al.*, 1995), mientras que *Vrn-H1*, *Vrn-H2* y *Vrn-H3* fueron identificados en cebada como genes de respuesta a la vernalización (Slafer *et al.*, 2015, Trevaskis, 2010). Otro grupo de genes que afectan en menor medida el tiempo a floración una vez que los requerimientos de vernalización o fotoperíodo han sido satisfechos son los llamados genes de precocidad intrínseca (Ochagavía *et al.*, 2019) o *eps* (del inglés, *earliness per se*), como el *eps2S*, *eps3L* o *eps4L*, entre otros (Slafer *et al.*, 2015, Borrás *et al.*, 2010, Turner *et al.*, 2005, Laurie *et al.*, 1995).

Identificar genes relacionados a respuestas del ambiente o la idea de un control génico independiente para las diferentes etapas preantesis son aspectos de gran potencial para el mejoramiento. Borrás *et al.* (2010), en una población de cebada biparental, hacen referencia a un QTL (*quantitative trait loci*) en el cromosoma 2HS

responsable del control génico en la etapa de iniciación de hojas y espiguillas y también en la de elongación del tallo dependiendo de qué padre aporte el alelo. Borrás *et al.* (2012) concluyen que las etapas de iniciación de hojas y espiguillas y la de elongación de tallos están bajo un control génico parcial diferente dado por QTL menores en la población estudiada.

Alqudah *et al.* (2014), a través de un análisis de GWAS con 218 genotipos de cebada con diferentes sensibilidades al fotoperíodo, proporcionaron evidencia sobre la división del control génico para iniciación floral y el tiempo a antesis, detectando nuevos QTL para las distintas fases.

En nuestra región se ha desarrollado investigación que apunta a comprender las bases genéticas asociadas a la fenología del cultivo de cebada, intentando responder a las demandas que aparecen en el horizonte del cultivo.

Castro *et al.* (2017), en una población de cebada doble haploide (Baronesse/FullPint), describen la presencia de dos genes, *eps2S* en 2H y *sdw1* en 3H, con efectos aditivos, determinando las variaciones de la fecha a antesis, con *eps2S* afectando la subfase Z3.0-A y *sdw1/denso* controlando Z2.1-Z3.0. Recientemente se identificaron QTL asociados a duración de fases y respuesta al fotoperíodo en los cromosomas 1H, 2H, 4H, 5H y 7H, donde genes *Eps* aparecen como candidatos principales (Locatelli *et al.*, 2022).

También han representado un avance sobre los estudios genéticos del cultivo en Uruguay los análisis de GWAS para rasgos agronómicos relevantes aportando información para la adaptación del cultivo de Locatelli *et al.* 2013, los trabajos de Grignola P. (2018) indicando segregación para *Ppd-H1* en la población RIL INIA Ceibo/Norteña Carumbé y los análisis de GWAS en una población de mapeo de asociación anidada para rendimiento y fenología que permitió identificar nueve regiones *hot spot*, sobre todo en 1H y 2H (Verocai, 2021).

Además de la fenología, otros rasgos asociados como número de hojas producidas o su tasa de aparición deben tenerse en cuenta en el desarrollo. Al intervalo entre la aparición de dos hojas sucesivas se lo conoce como filocrón y es utilizado como una medida de la tasa de desarrollo de las plantas (Frank y Bauer, 1995, Hay y Ellis, 1998). Cambios en la tasa de aparición de hojas, asociados a diferentes ambientes

y genotipos, afectan el desarrollo de los ciclos. Por tal razón, conocer los factores que determinan el filocrón y estudiar si existe correlación genética entre la duración del ciclo y subfases del desarrollo y el filocrón es de interés para avanzar en la comprensión del desarrollo de los cultivos.

Algunos trabajos como el de Borrás *et al.* (2010) en cebada hacen referencia a QTL con efecto principal sobre número de hojas en 2HL y para valor del filocrón en 7HS; QTL para filocrón también han sido identificados en otras especies, como arroz (Miyamoto *et al.*, 2004), donde identifica tres QTL. En trigo, Baga *et al.* (2009) reportan en las regiones 4A.2, 6B y 6D genes que afectarían exclusivamente al filocrón.

Conocer la localización y el número de regiones genómicas asociadas a variables de interés agronómico implica una contribución importante al conocimiento general de la especie y abre la posibilidad del uso de dicha información en los programas de mejoramiento (Locatelli, 2011), pero no se cuenta con información similar para variables como el número de hojas y su tasa de aparición.

El objetivo del presente trabajo fue identificar regiones genómicas asociadas a la fenología del cultivo, al número final de hojas y su tasa de aparición para determinar posibles efectos sobre la adaptabilidad de la cebada al ambiente de producción local. Para eso utilizamos una población de líneas recombinantes endocriadas obtenidas a partir de la cruce de dos variedades con comportamiento contrastante en las variables estudiadas.

### 3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó una población RIL (del inglés, *recombinant inbred lines*) compuesta por 82 líneas (F7) (Grignola 2018) obtenida a partir de la cruce de dos materiales adaptados a las condiciones locales de producción y con buena calidad maltera: CLE 202 (INIA Ceibo) y Norteña Carumbé. El primero presenta mayor sensibilidad fotoperiódica y mayor duración de ciclo.

Para la caracterización fenotípica se realizaron cuatro experimentos a campo en dos años y en épocas de siembras contrastantes. Los experimentos se sembraron en el predio experimental de la Facultad de Agronomía (Sayago, Montevideo, Uruguay, 34°51'S, 56°12'W) en las siguientes fechas: 14 de junio de 2016 (E1 2016), 27 de junio de 2017 (E1 2017), 27 de setiembre de 2016 (E2 2016) y 13 de octubre de 2017 (E2 2017). Se utilizó un diseño de bloques incompletos al azar con tres repeticiones en 2016 y cuatro repeticiones en 2017, con parcelas de dos surcos de 1 m de largo separados por 0,20 m y 0,30 m entre parcelas. Se utilizaron cultivares testigo de diferentes orígenes, con comportamiento conocido para duración de ciclos y valor de filocrón: INIA Ceibo, Norteña Carumbé, Estanzuela Quebracho, Baronesse, Berolina, Bowman, Danuta, Kenia, Logan y Prior. Se sembró con una densidad de 250 plantas m<sup>-2</sup>, fertilizando con urea equivalente a 45 kg ha<sup>-1</sup> después de inicio de macollaje, de acuerdo a recomendación, según las necesidades del cultivo. Las malezas fueron removidas a mano periódicamente.

Se registraron las fechas de los siguientes eventos: emergencia (E), inicio macollaje (Z2.1), inicio encañado (Z3.1) y antesis (A) de acuerdo a la escala de desarrollo Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974) cuando el 50 % de la parcela estaba en esa condición. Se consideró antesis cuando las aristas estaban 1 cm por encima de la hoja bandera (Castro *et al.* 2017, 2008; Locatelli *et al.*, 2022, 2013). En cada parcela se realizó el seguimiento de cinco plantas, elegidas al azar, de las cuales se registró (después de que las plantas superaron el estado Z2.1) el número y el largo de las hojas en el tallo principal, de acuerdo a la escala de Haun (Haun, 1973). También se midió la altura (cm) hasta la base de la espiga de esas plantas.

Se determinó la duración del ciclo a antesis y de las subfases E-Z2.1, Z2.1-Z3.1, Z3.1-A calculando los grados días (°Cd) acumulados, utilizando una temperatura base de 0°C. A partir de las diferencias de ciclo a antesis y de las subfases entre épocas de siembra, se determinó la respuesta al fotoperíodo en cada año (Castro *et al.*, 2017; Locatelli *et al.*, 2022). Con la tasa aparición foliar se calculó el valor del filocrón (°Cd), como la inversa de la pendiente de la regresión lineal (que representa la tasa de aparición foliar) entre el número de hojas en el tallo principal y el tiempo térmico acumulado (Cao y Moss, 1989).

Los datos ambientales (temperatura máxima y temperatura mínima del aire) fueron obtenidos de la estación agrometeorológica que se encuentra a 50 m de donde se realizaron los ensayos.

Las medias ajustadas para cada línea endocriada avanzada (RIL) fueron obtenidas mediante un modelo mixto donde el factor RIL se consideró fijo y las repeticiones como aleatorios.

Se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + C_j + \epsilon_{ij},$$

donde  $Y_{ij}$  = variable,  $\mu$  = media poblacional,  $B_i$  = efecto de la rep  $i$ ,  $C_j$  = efecto del testigo  $j$ ,  $\epsilon_{ij}$  = error experimental.

El análisis de correlación se realizó utilizando el paquete *stats* (Lê *et al.*, 2008) del software libre R (R Core Team, 2021).

Para la población RIL en estudio se construyó un mapa de ligamiento que contiene 1484 marcadores moleculares SNP de la plataforma Illumina 50K (Bayer *et al.*, 2017) utilizando el algoritmo MSTmap (Wu *et al.*, 2008) implementado con el paquete ASMap (Taylor y Butler, 2017) del software libre R (R Core Team, 2021).

Para cada marcador se analizó la distorsión de segregación usando test  $\chi^2$  para la desviación de la segregación esperada 1:1, las fracciones de recombinación fueron convertidas a cM usando la función Kosambi.

El método de extracción de ADN y el genotipado mediante SNP se describen en Bhatta *et al.* (2020).

La identificación de regiones genómicas asociadas a los fenotipos de interés se realizó mediante análisis de QTL utilizando la opción de mapeo por intervalo compuesto (CIM) que ofrece el programa QTL Cartographer 2.5 (Wang, Basten y Zeng, 2005). Se utilizó un máximo de cinco cofactores en el procedimiento de regresión escalonada *forward-backward* con un umbral de significancia de 0,10. El mínimo para intervalo de mapeo se estableció en 2 cM y para la ventana de escaneo en 10 cM. Se utilizaron 1000 permutaciones con un nivel de significancia de todo el genoma de 0,05 para determinar el umbral para informar un QTL (Castro et al., 2017). Se obtuvo la proporción de varianza fenotípica explicada por cada QTL ( $r^2$ ) y su efecto aditivo. Las interacciones epistáticas entre QTL se detectaron mediante el mapeo de intervalo múltiple (MIM) en el QTL Cartographer 2.5 utilizando criterios de información bayesiana (BIC-MO).

Basados en el Barleymap (<http://floresta.eead.csic.es/barleymap/find/>) y GrainGenes (<https://wheat.pw.usda.gov/cgi-bin/GG3/browse.cgi>) se detectaron marcadores «sinónimos» o de referencia y posibles genes candidatos de acuerdo a la información brindada por diferentes mapas (que nos dan la posición física aproximada).

### 3.5. RESULTADOS

#### 3.5.1. Descripción de las variables analizadas

Los ensayos presentaron diferencias en las condiciones ambientales dadas por las fechas de siembra y situaciones puntuales de cada año. La variación más importante entre los dos años de ensayos fue la temperatura: durante 2017 se registraron valores de aproximadamente 2 °C por encima de los de 2016 para las dos épocas de siembra. En época de siembra temprana, las precipitaciones acumuladas fueron mayores (170 mm más) en 2017, mientras que las fechas tardías no mostraron diferencias entre años.

En todas las fases, en las dos fechas de siembra, la duración en grados días fue mayor durante el año 2017, el año de mayores temperaturas. Existió segregación transgresiva para todas las variables en los cuatro ambientes (Tabla 1).

Tabla 1. Medias de la población RIL y los parentales para duración de ciclo a antesis (E-A) y su fases (E-Z2.1, Z2.1-Z3.1, Z3.1-A) en grados días (°Cd), con el p-valor de la diferencia entre I. Ceibo y N. Carumbé. Para cada ensayo y variable se indica el rango de la población y el número de individuos segregantes. (E1, siembra temprana y E2, siembra tardía).

Ensayo/ Rasgo	Media parentales			Rango de la población y número de segregantes			
	I. Ceibo	N. Carumbé	p-valor	Media población	Rango	Número de líneas < parental temp.	Número de líneas > parental tardío
<b>E-Z2.1</b>							
E1 2016	372	338	0,344	334	280-397	48	19
E2 2016	205	188	0,566	191	143-306	48	26
E1 2017	396	387	0,864	383	230-540	41	36
E2 2017	210	223	0,551	218	184-344	54	28
<b>Z2.1-Z3.1</b>							
E1 2016	536	445	0,017	519	339-678	20	36
E2 2016	319	376	0,052	304	151-485	48	12
E1 2017	665	597	0,297	604	319-871	41	25
E2 2017	325	427	0,187	314	153-562	49	10
<b>Z3.1-A</b>							
E1 2016	380	457	0,012	383	267-513	38	8
E2 2016	222	344	0,030	230	147-486	40	2
E1 2017	441	550	0,029	419	258-639	47	4
E2 2017	286	554	0,002	297	184-678	41	2
<b>E-A</b>							
E1 2016	1287	1240	0,113	1236	1065-1366	40	20
E2 2016	747	909	0,000	726	583-978	55	7
E1 2017	1503	1534	0,609	1404	1137-1639	66	8
E2 2017	821	1204	0,005	827	625-1389	47	3

Los parentales presentaron diferencias significativas en el ciclo a antesis (E-A) en siembras tardías (N. Carumbé con mayor duración), pero no en siembras tempranas (Tabla 1). En la subfase E.-Z2.1 no presentaron diferencias en ningún ambiente y en la subfase Z2.1-Z3.1 solo en un ambiente: siembra temprana en 2016 (I. Ceibo con mayor duración). En la subfase Z3.1-A, por el contrario, hubo diferencias significativas en los cuatro ambientes (I. Ceibo en todos los casos con menor duración).

Existió un rango de variabilidad poblacional mayor en 2017 para ciclo a antesis y sus subfases Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A en las dos épocas de siembra.

Con la excepción de E2 2017, la media de la población para el ciclo a floración estuvo por debajo de los valores del parental de menor ciclo. En la época temprana de 2016, dicho parental fue N. Carumbé; en el resto de los experimentos fue I. Ceibo. Los parentales presentaron diferencias significativas en siembras tardías.

En general, tanto en lo que refiere al ciclo a antesis como en las distintas subfases, la población presentó mayoritariamente valores cercanos o inferiores al parental de menor valor (la identidad de dicho parental varió en los distintas combinaciones variable-experimento) (Tabla 1).

I. Ceibo fue el parental que presentó mayor respuesta al fotoperíodo tanto para el ciclo a antesis como para las subfases (Tabla 2). Se detectó segregación transgresiva para estas variables. El rango de observaciones fue mayor durante 2017 (más cálido).

Tabla 2. Respuesta al fotoperíodo de la población RIL y los parentales para duración de ciclo a antesis (E-A) y subfases (E-Z2.1, Z2.1-Z3.1, Z3.1-A) en grados días (°Cd) en los dos años. Para cada año y variable se indica el rango de la población y el número de individuos segregantes.

Año/Rasgo	Media parentales		Media población	Rango de la población y número de segregantes		
	I.Ceibo	N.Carumbé		Rango	Número de líneas < respuesta	Número de líneas > respuesta
<b>2016</b>						
E-Z2.1	166	150	143	2,4 to 238	46	28
Z2.1-Z3.1	217	69	215	-10 to 448	6	42
Z3.1-A	158	113	153	19 to 269	19	34
E-A	540	331	510	278 to 651	5	40
<b>2017</b>						
E-Z2.1	186	164	165	-29 to 355	41	36
Z2.1-Z3.1	340	190	290	-156 to 585	19	30
Z3.1-A	155	-4	122	-165 to 286	5	26
E-A	682	330	580	-29 to 977	4	21

En lo que refiere a filocrón (Fig. 1), los parentales presentaron valores mayores de filocrón en siembras tardías del año más cálido, mientras que en siembras tempranas los valores se mantienen estables. Existió segregación transgresiva, con la media del I. Ceibo más cercana a la media poblacional en ambientes tardíos, mientras que la media de la población en siembras tempranas se pareció a ambos parentales.

Los valores de filocrón de la población fueron similares en siembras tempranas, con una media de 114 °Cd y 117 °Cd en 2016 y 2017, respectivamente (Fig. 1). En siembras tardías hay una diferencia entre años con una media más baja (81 °Cd) en 2016 y un comportamiento cercano a la época temprana (107 °Cd) en 2017 (año de mayor temperatura promedio). En los dos años el rango de distribución fue mayor en siembras tardías.

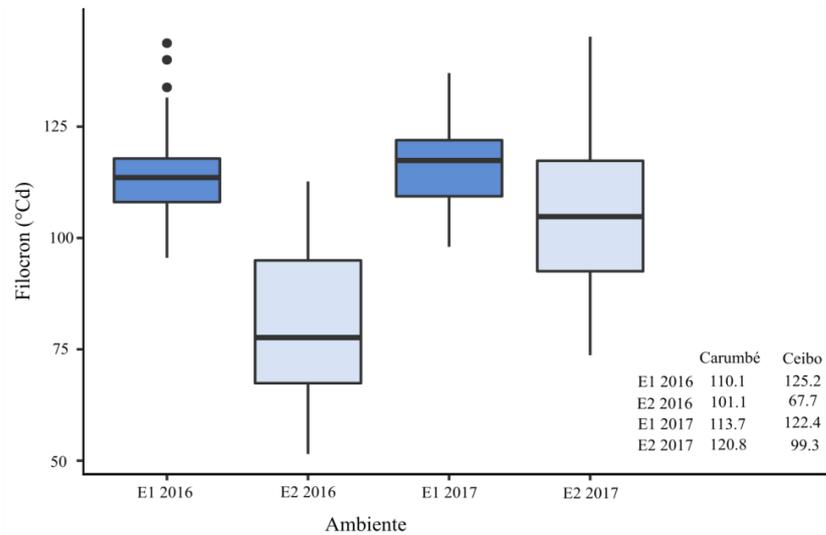


Figura 1. *Box plots* con los valores del filocron (°Cd) para la población en los cuatro ambientes. En el extremo inferior derecho se indican los valores de filocron (°Cd) para los padres.

En NFH se detectó segregación en todos los ambientes (Fig. 2). En todos los ambientes N. Carumbé fue el parental que desarrolló más hojas y en siembras tardías esa diferencia fue mayor (Fig. 2). El NFH presentó una distribución con un rango que osciló entre 9,5 y 14 hojas para E1 2016, entre 6,6 y 10,2 hojas para E2 2016, entre 11 y 15 hojas para E1 2017 y entre 7,2 y 12 hojas para E2 2017 (Fig. 2). Se registró un mayor número de hojas en siembras tempranas en ambos años y un mayor NFH en el año más cálido en las dos fechas de siembra.

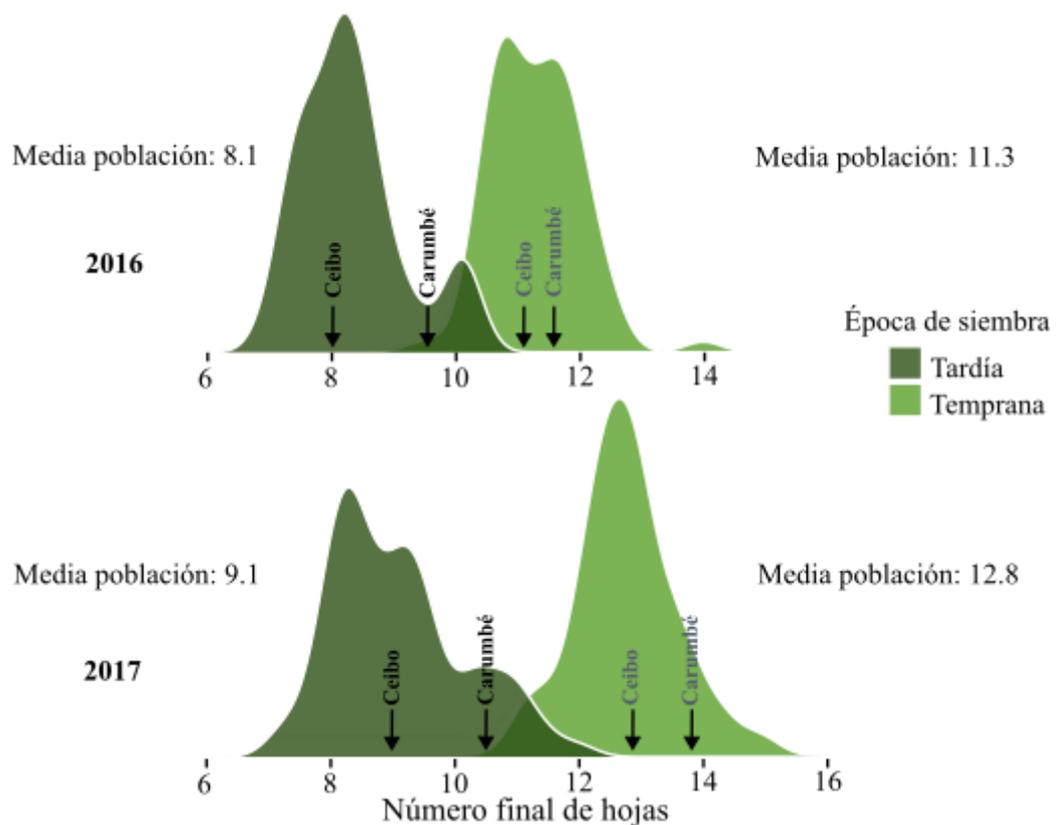


Figura 2. Distribución de número final de hojas (NFH) de la población durante los años 2016 y 2017. En cada ambiente, las flechas indican los valores del NFH correspondiente a los padres I. Ceibo y N. Carumbé.

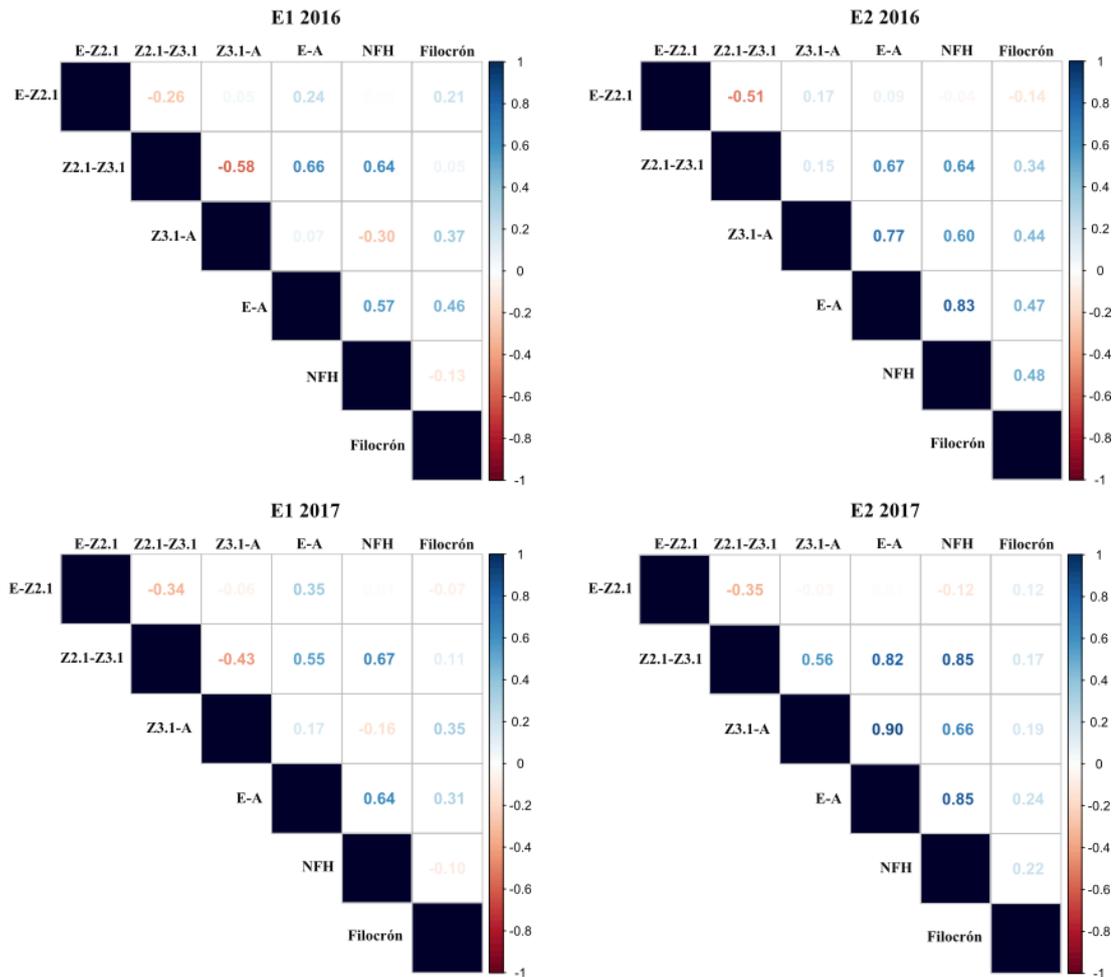
E-A se correlacionó positivamente con la subfase Z2.1-Z3.1 en todos los ambientes y con la subfase Z3.1-A en siembras tardías. Además, estas dos subfases se correlacionan negativamente entre sí en siembras tempranas y de manera positiva en E2 2017 (Fig. 3).

E-A también correlacionó positivamente con NFH y la asociación fue alta en siembras tardías de los dos años, mientras que la relación E-A y filocrón fue moderada en las dos siembras del año 2016 y más baja en relación a NFH (Fig. 3).

NFH correlacionó positivamente con Z2.1-Z3.1 en todos los ambientes, pero con la subfase Z3.1-A lo hizo positivamente en siembras tardías y de manera negativa (y débil) en siembras tempranas (Fig. 3).

NFH y filocrón presentaron una correlación baja, negativa en siembras tempranas, y positiva (muy moderada) en siembras tardías (Fig. 3).

Figura 3. Análisis de correlación para las variables E-Z2.1, Z2.1-Z3.1, Z3.1-A y E-A, todas en °Cd, número final de hojas (NFH) y filocrón (°Cd) en los cuatro ambientes.



### 3.5.2. Mapa de ligamiento

Se obtuvo un mapa de ligamiento conteniendo 1484 marcadores moleculares SNP de la plataforma Illumina 50K que se distribuyeron en 22 grupos de ligamiento entre todos los cromosomas. Los marcadores se distribuyeron de la siguiente manera: 130 pertenecen al 1H, 247 al 2H, 171 al 3H, 86 al 4H, 277 al 5H, 218 al 6H y 355 al

7H. El mapa de ligamiento abarcó 1107 cM con un promedio de espacio entre los marcadores de 1.3 cM.

### 3.5.3. Identificación de QTL

Se detectaron 35 QTL en los cuatro ambientes analizados. Dichos QTL se localizaron en los cromosomas 1H, 2H, 3H, 6H y 7H. Del total de QTL, 24 correspondieron a variables fenológicas y respuesta al fotoperíodo, 5 a NFH, 2 a filocrón y 4 a altura de planta.

Para la variable E-A se detectaron efectos de QTL en 4 regiones genómicas (Tabla 4). Dos de estos QTL corresponden al intervalo JHI-Hv50k-2016-71932 - JHI-Hv50k-2016-74781 en 2H, en los dos ambientes tardíos, siendo N. Carumbé el que aporta el alelo de mayor valor. Cuatro QTL fueron detectados en siembras tempranas: durante el año 2017, se reportan dos QTL con picos cercanos en el cromosoma 1H, en un caso es I. Ceibo el que aporta el alelo de mayor valor y en el otro es N. Carumbé, mientras que en 3H, el intervalo JHI-Hv50k-2016-201896 - JHI-Hv50k-2016-205257 se asoció con E-A en 2016 y 2017 con I. Ceibo aportando el alelo de mayor valor.

Para duración de la subfase Z2.1-Z3.1 se detectaron efectos de QTL en dos regiones genómicas (Tabla 4). Se detectó un QTL en 2H en la misma región reportada para E-A en ambientes tardíos, con N. Carumbé aportando el alelo de mayor valor. Los otros efectos correspondieron a los dos ambientes tempranos, en 3H y en la misma localización reportada para E-A, siendo I. Ceibo el que aporta el alelo de mayor valor.

Para la sub-fase Z3.1-A, se detectaron efectos de QTL en 3 regiones genómicas (Tabla 4). Tres QTL se reportan en 2H y en todos los ambientes excepto E1 2016, en la misma región reportada para E-A y Z2.1-Z3.1, con N. Carumbé aportando el alelo de mayor valor. Dos QTL fueron detectados en el 2016, uno se ubica en el intervalo JHI-Hv50k-2016-16505 - JHI-Hv50k-2016-16607 en 1H con I. Ceibo aportando el alelo de mayor valor, mientras que el otro está ubicado en 3H con N. Carumbé aportando el alelo de mayor valor.

Tabla 4. QTL detectados para Z2.1-Z3.1, Z3.1-A y E-A en la población RIL. Cr.: cromosoma. LOD: valor de significancia.  $r^2$  (expresado en porcentaje). Ad. ef.: efecto aditivo. Pico: posición del pico en cM. Negrita: I. Ceibo aporta el alelo de mayor valor. Referencia: \*POPSEQ 2017. \*\*IBSC 2012.

Cr.	Intervalo		Z2.1-Z3.1				Z3.1-A				E-A			
			E1 2016	E2 2016	E1 2017	E2 2017	E1 2016	E2 2016	E1 2017	E2 2017	E1 2016	E2 2016	E1 2017	E2 2017
<b>1Hd</b>	JHI-Hv50k-2016-49930	LOD											3,1	
	-	$r^2$ (%)											5,9	
	JHI-Hv50k-2016-56440	Ad. ef.											50,9	
	-	Pico											132,8**	
<b>1He</b>	JHI-Hv50k-2016-56946	LOD											<b>5,3</b>	
	-	$r^2$ (%)											<b>21,3</b>	
	JHI-Hv50k-2016-57940	Ad. ef.											<b>-64,9</b>	
	-	Pico											130**	
<b>1Hf</b>	JHI-Hv50k-2016-16505	LOD					<b>4,3</b>							
	-	$r^2$ (%)					<b>11,4</b>							
	JHI-Hv50k-2016-16607	Ad. ef.					<b>-21,2</b>							
	-	Pico					35,7*							
<b>2Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-71932	LOD		4,1		10,3		5,5	3,4	3,9		10,1		7,9
	-	$r^2$ (%)		24,9		48,8		30,8	19,6	20,9		49,8		40,6
	JHI-Hv50k-2016-74781	Ad. ef.		42		65,4		33,7	35,2	42,6		74,6		104
	-	Pico		18,9*		22,2**		23,8**	23,8**	22,2**		18,9*		22,2**
<b>3Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-208894	LOD					7,6							
	-	$r^2$ (%)					30,8							
	JHI-Hv50k-2016-211296	Ad. ef.					29,6							
	-	Pico					124,5*							
<b>3Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-201896	LOD	<b>9,6</b>		<b>6,1</b>						<b>3,7</b>		<b>3,2</b>	
	-	$r^2$ (%)	<b>52,9</b>		<b>33,7</b>						<b>21,3</b>		<b>18</b>	
	JHI-Hv50k-2016-207495	Ad. ef.	<b>-60,1</b>		<b>-69,1</b>						<b>-29,2</b>		<b>-48,2</b>	
	-	Pico	108,8*		108,8*						108,1*		108,1*	

Se identificaron QTL asociados a respuesta al fotoperíodo para E-A, Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A en los cromosomas mencionados anteriormente para fenología (1H, 2H, 3H) y en las mismas regiones genómicas. En todos los casos el alelo de mayor valor fue aportado por I. Ceibo (Tabla 5).

Tabla 5. QTL detectados para respuesta al fotoperíodo de E-A, Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A en la población RIL. Cr.: cromosoma. LOD: valor de significancia.  $r^2$  (expresado en porcentaje). Ad. ef.: efecto aditivo. Pico: posición del pico en cM. Negrita: I. Ceibo aporta el alelo de mayor valor. Referencia: \*POPSEQ 2017. \*\*IBSC 2012.

Cr.	Intervalo		E-A		Z2.1-Z3.1		Z3.1-A	
			2016	2017	2016	2017	2016	2017
<b>1Hd</b>	JHI-Hv50k-2016-49930	LOD			<b>3,1</b>			
	-	$r^2$ (%)			<b>12,8</b>			
	JHI-Hv50k-2016-56440	Ad. ef.			<b>-37,9</b>			
		Pico			<b>132,8*</b>			
<b>2Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-71932	LOD	<b>11,8</b>	<b>3,8</b>		<b>4,7</b>	<b>3,9</b>	
	-	$r^2$ (%)	<b>49</b>	<b>19,7</b>		<b>22,5</b>	<b>22,2</b>	
	JHI-Hv50k-2016-74781	Ad. ef.	<b>-65,6</b>	<b>-76,2</b>		<b>-73,4</b>	<b>-25,9</b>	
		Pico	<b>18,9*</b>	<b>22,2**</b>		<b>22,2**</b>	<b>18,9*</b>	
<b>3Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-201896	LOD	<b>3,9</b>	<b>4,7</b>	<b>5,1</b>	<b>4,9</b>		
	-	$r^2$ (%)	<b>15,7</b>	<b>26</b>	<b>25,7</b>	<b>24,4</b>		
	JHI-Hv50k-2016-207495	Ad. ef.	<b>-32,6</b>	<b>-79,1</b>	<b>-46,6</b>	<b>-69,1</b>		
		Pico	<b>108,8*</b>	<b>108,8*</b>	<b>100,4*</b>	<b>108,8*</b>		

Para filocrón, en el año 2016, se detectó un QTL en el 6H en siembra temprana y otro en el 2H para siembra tardía, este último en el intervalo ya mencionado para todas las variables fenológicas (Tabla 6). Para NFH, durante los dos años, se detectaron efectos de QTL en tres regiones genómicas. Dos de las regiones coinciden con los efectos ya reportados para fenología en los cromosomas 2H y 3H. En la región del cromosoma 2H los efectos fueron detectados en las siembras tardías, con N. Carumbé aportando el alelo de más valor. En la región del 3H, los efectos fueron detectados en siembras tempranas, con I. Ceibo aportando el alelo de mayor valor. El QTL en 6H fue detectado en siembra temprana en 2016, con I. Ceibo aportando el alelo de mayor valor. Los QTL detectados en 6H para filocrón y NFH no son coincidentes.

Para altura de planta se identificaron efectos de QTL en dos regiones genómicas. Tres QTL fueron coincidentes en la región ya mencionada de 3H, en todos los ambientes excepto E2 2017. El QTL en 7H fue detectado en un solo ambiente (E1 2017). En todos los casos fue N. Carumbé el que aportó el alelo de mayor valor (Tabla 6).

Tabla 6. QTL detectados para filocrón, NFH (número final de hojas) y altura de planta en la población RIL. Cr.: cromosoma. LOD: valor de significancia.  $r^2$  (expresado en porcentaje). Ad. ef.: efecto aditivo. Pico: posición del pico en cM. Negrita: I. Ceibo aporta el alelo de mayor valor. Referencia: \*POPSEQ 2017. \*\*IBSC 2012.

Cr.	Intervalo		Filocrón		NFH				Altura			
			E1 2016	E2 2016	E1 2016	E2 2016	E1 2017	E2 2017	E1 2016	E2 2016	E1 2017	E2 2017
<b>2Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-71932	LOD		3,4		8,6		11,5				
	-	$r^2$ (%)		33,6		44,9		51,7				
	JHI-Hv50k-2016-74781	Ad. ef.		10,2		0,6		0,8				
	-	Pico		23,8**		18,9*		22,2**				
<b>3Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-203080	LOD			<b>6,5</b>		<b>3,6</b>		4,1	3,4	9,8	
	-	$r^2$ (%)			<b>29,2</b>		<b>20,7</b>		22,8	20,8	46,5	
	JHI-Hv50k-2016-207495	Ad. ef.			<b>-0,4</b>		<b>-0,4</b>		3,6	2,1	5,6	
	-	Pico			108,1*		108,8*		108,1*	108,8*	108,8*	
<b>6Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-377180	LOD	<b>3</b>									
	-	$r^2$ (%)	<b>17,9</b>									
	JHI-Hv50k-2016-378173	Ad. ef.	<b>-3,4</b>									
	-	Pico	21*									
<b>6Ha</b>	JHI-Hv50k-2016-426839	LOD			<b>3,3</b>							
	-	$r^2$ (%)			<b>13,1</b>							
	JHI-Hv50k-2016-430061	Ad. ef.			<b>-0,3</b>							
	-	Pico			116*							
<b>7Hb</b>	JHI-Hv50k-2016-442440	LOD									3,2	
	-	$r^2$ (%)									9,7	
	JHI-Hv50k-2016-4444891	Ad. ef.									2,7	
	-	Pico									5,9*	

### 3.6. DISCUSIÓN

El rendimiento potencial de los cultivos es definido por el genotipo y el ambiente, y la fenología es clave en la adaptación de la cebada a los diferentes ambientes de producción. Para analizar las respuestas del cultivo en diferentes ambientes y determinar las bases genéticas detrás de las posibles variaciones, se realizó la caracterización fenológica de una población obtenida del cruzamiento INIA Ceibo x Norteña Carumbé en cuatro ambientes.

#### 3.6.1. Variables fenotípicas

La duración de ciclo a antesis fue similar para los parentales de la población en siembras tempranas de los dos años sin presentar diferencias significativas. Esto podría explicarse porque siembras de mediados y finales de junio exponen la sub fase sensible al fotoperíodo a condiciones que generan una respuesta, reduciendo la duración de I. Ceibo, el cultivar de ciclo largo portador de Ppd-H1 dominante. En cambio, en siembras tardías, N. Carumbé tuvo un ciclo a floración más largo, que puede ser atribuido a una mayor duración de la subfase Z3.1-A (Tabla 1) y a la menor sensibilidad al fotoperíodo.

En los dos años, la siembra tardía redujo considerablemente el ciclo para los padres, con el cultivar I. Ceibo presentando mayores reducciones al atrasar la siembra, lo cual era esperable al ser un cultivar con mayor sensibilidad al fotoperíodo. También las subfases tuvieron menor duración en siembras tardías.

Para los parentales, el año de mayor temperatura promedio estuvo asociado a una mayor duración E-A y de las subfases, estimados en grados días, durante las dos épocas de siembra. Esto también se vio reflejado en la población que tuvo el mismo comportamiento. En la población, para ciclo a antesis y sus subfases, existió segregación transgresiva; esto indica una fuente de variación genética interesante para las variables analizadas (Borras *et al.*, 2009) y permite la posible detección de QTL entre las variables segregantes (Collard *et al.*, 2005), más allá de que las diferencias entre los parentales no fue importante, en siembras tempranas.

En las diferentes subfases del desarrollo, el rango de variabilidad fue mayor durante 2017, el año de mayor temperatura promedio, para el ciclo a antesis ese rango estuvo por encima de los 500 y los 700 grados día en las siembras temprana y tardía, respectivamente. Estos valores se reflejaron en una mayor dispersión en la población, que podríamos asociar con el aumento de unos 2 °C en el año 2017, lo que generó modificaciones en el comportamiento de los cultivares.

I. Ceibo fue el cultivar que presentó mayor sensibilidad al fotoperíodo, tanto para las subfases como para el ciclo, y la población segregó para estas variables. Existió una mayor cantidad de líneas segregantes con valores superiores al padre de mayor respuesta en E-A, Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A durante los dos años de ensayo.

La variable filocrón mostró segregación en los cuatro ambientes, la media poblacional en siembras tempranas fue similar, pero en siembras tardías existieron diferencias, y en el año de mayor temperatura promedio se observó una tasa de aparición de hoja más lenta o un filocrón mayor, algo contrario a lo que se esperaba. En todos los ensayos, la media de los padres fue similar a la de la población (con I. Ceibo más cercana en siembras tardías); de todas formas, se observa una dispersión o una variabilidad en la población que podría ser de interés en el campo del mejoramiento.

El NFH también presentó segregación transgresiva en los cuatro ambientes y en los dos años se desarrollaron más hojas durante las fechas de siembra temprana. En el año 2017, en las dos fechas de siembra, se desarrollaron más hojas en comparación con el año de menor temperatura. En siembras de junio se desarrollaron 1,5 hojas más, mientras que, en siembras tardías, de principios de primavera, se desarrolló una hoja más durante el año 2017.

En cuanto a la relación entre las variables, los resultados muestran que el ciclo a antesis está asociado a sus subfases Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A de manera positiva y alta, sobre todo en siembras tardías, caracterizadas por fotoperíodos largos y temperaturas en ascenso (Tabla 3).

También E-A correlacionó positivamente con NFH, de manera moderada en siembras tempranas y alta en siembras tardías en los dos años. Este resultado es coincidente con lo reportado por Ochagavía *et al.* (2022), Pérez-Gianmarco *et al.*

(2018) y Borrás *et al.* (2009), quienes confirman esta asociación bajo diversos fotoperíodos. La subfase Z2.1-Z3-1 también mostró correlación alta y positiva con NFH en los cuatro ambientes.

Por otro lado, la asociación del ciclo a antesis con el filocrón fue moderada y ocurrió solo en el año 2016. Esta correlación coincide con lo reportado en diversos ambientes por Paynter *et al.* (2003), Borrás *et al.* (2009) y Ochagavía *et al.* (2022).

### 3.6.2. Base genética de las variables

El análisis de la base genética de la variación presente en la población de cebada permitió detectar QTL distribuidos en los cromosomas 1H, 2H, 3H, 6H y 7H, con el 2H y el 3H concentrando el 80 % del total de los QTL. La densidad de marcadores presentes en los 5 cromosomas osciló entre 130 y 355, lo que puede considerarse un número adecuado de acuerdo con la bibliografía (Locatelli, 2011).

Los QTL detectados corresponden a duración del ciclo a antesis y sus subfases, respuesta al fotoperíodo y altura de planta, y también están asociados con dos variables novedosas en nuestros estudios como lo son el NFH y el filocrón. Mayoritariamente, los QTL presentes en 2H corresponden a siembras tardías, mientras que los detectados en 3H, 6H y 7H son de fechas de siembras tempranas.

En el intervalo JHI-Hv50k-2016-71932 - JHI-Hv50k-2016-74781 (2H) para las variables E-A, Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A se identificaron efectos coincidentes de QTL para la duración de las fases (Tabla 4) y para respuesta al fotoperíodo (Tabla 5). En lo que refiere a duración de fases, todos correspondieron a siembras tardías, con una excepción (Z3.1-A en E1 2017). En todos los casos fue N. Carumbé el que aportó el alelo de mayor valor. I. Ceibo aportó el alelo de mayor sensibilidad a fotoperíodo. Este resultado corresponde a lo esperable para un QTL de sensibilidad al fotoperíodo, los efectos se evidencien en siembras tardías, donde el alelo de sensibilidad provoca una reducción en la duración del ciclo o la sub fase (siendo, por tanto, el insensible a fotoperíodo el que aporta el mayor valor). El progenitor reportado como sensible a fotoperíodo (I. Ceibo) aportó el alelo sensible, y el progenitor insensible (N. Carumbé),

el alelo asociado a mayor duración del ciclo. En siembras tempranas es esperable que no haya efectos en esta región.

El QTL detectado coincide con la región donde se ha descrito a *Ppd-H1*, el principal gen de respuesta al fotoperíodo (Laurie *et al.*, 1995) que codifica para PSEUDO-RESPONSE REGULATOR (HvPRR37) en días largos (Fernández-Calleja *et al.*, 2021). Ha sido reportado en trabajos realizados también en siembras tardías en nuestro ambiente de producción por Grignola (2018) y aparece como relevante al momento de explicar la variación en el ciclo de la cebada así como también el NFH y filocrón.

Como forma de afinar la posible posición en el cromosoma se identificaron algunos marcadores pico del trabajo con marcadores presentes en la bibliografía. El marcador JHI-Hv50k-2016-72545 asociado a E-A, Z2.1-Z3.1 en E2 2016 se ubica en la misma posición que los marcadores SCRI\_RS\_210172, SCRI\_RS\_233272 y SCRI\_RS\_153798, ubicados a 1 cM de la posición de *Ppd-H1*, descritos en Alqudah *et al.* (2016) en un análisis de GWAS de una colección de 218 variedades y en el trabajo de Eagle *et al.* (2021).

De acuerdo a Alqudah *et al.* (2018) utilizando SNP de la plataforma 9K Illumina identifican 8 marcadores localizados en la región del gen *Ppd-H1* que en nuestra búsqueda coinciden con el marcador pico JHI-Hv50k-2016-73694. También en Eagle *et al.* (2021) algunos marcadores aparecen como marcadores asociados al gen *Ppd-H1* cuando se midió respuesta al fotoperíodo o el momento en que la mitad de la espiga emergió encima de la hoja bandera.

En el intervalo JHI-Hv50k-2016-201896 - JHI-Hv50k-2016-207495 (3H) se identificaron 4 QTL para la duración de las fases E-A y Z2.1-Z3.1 (Tabla 4) en siembras tempranas. En todos los casos fue I. Ceibo el que aportó el alelo de mayor valor. Esto puede obedecer a que en un ambiente de siembra temprana I. Ceibo, aporta ciclo largo, dado que el fotoperíodo no es lo suficientemente largo como para inducir un desarrollo acelerado del ciclo.

También en el mismo intervalo y en las dos variables mencionadas se detectó respuesta al fotoperíodo (Tabla 5) con I. Ceibo aportando el alelo de mayor valor. Los QTL detectados en 3H se ubican en la región donde la bibliografía describe al gen

*sdw1*, en la posición 108-109 cM de acuerdo al mapa POPSEQ (Mascher *et al.* 2017). Este gen controla la duración de la subfase Z2.0-Z3.0 (Castro *et al.*, 2017) así como también altura de planta y calidad de grano (Xu *et al.*, 2017, Jia *et al.*, 2009). En nuestro caso detectamos en esta región efectos de QTL para altura de planta en tres ambientes (lo que sugiere posible efecto pleiotrópico con E-A). Es I. Ceibo quien aporta el alelo de baja altura, lo que coincide con lo esperable para el gen analizado.

También para E-A y Z3.1-A se identificaron tres QTL en 1H en siembras tempranas, los dos picos detectados para E-A se encuentran en la misma región pero en un caso es I. Ceibo y en otro N. Carumbé el que aporta el alelo de mayor valor. Este mismo intervalo presentó efecto para respuesta al fotoperíodo de la subfase Z2.1-Z3.1. Estos QTL coinciden con la zona donde se ha descrito el gen de madurez temprana *eam8* (Alqudah *et al.*, 2016, Locatelli *et al.*, 2013), gen ortólogo a EARLY FLOWERING (ELF3) regulador del reloj circadiano en *Arabidopsis thaliana*. Este gen se expresa generalmente en fotoperíodos superiores a 10 horas, pero se considera que puede afectar el momento antes en un rango amplio de fotoperíodos (Sameri *et al.*, 2011).

En lo que refiere a NFH y el filocrón, en épocas de siembra tardía se identificaron efectos de QTL para estas variables en la región mencionada para respuesta al fotoperíodo y fenología en 2H. Por otro lado, en 3H se detectó efecto en siembra temprana (en los dos años) para NFH en la región correspondiente a la asociación con E-A y Z2.1-Z3.1. En el caso de 2H es N. Carumbé el que aporta el alelo de mayor valor, mientras que en los detectados en 3H es I. Ceibo el que lo aporta.

Esta coincidencia en los QTL detectados puede explicar en parte las correlaciones descritas en Tabla 3, donde se identifica asociación entre NFH o filocrón y las fases del desarrollo mencionadas.

Por ejemplo, el intervalo en 2H y, en concreto, el marcador pico JHI-Hv50k-2016-72545 aparecen asociados a E-A, Z2.1-Z3.1 y NFH en E2 2016, coincidiendo con la correlación entre dichas variables (Tabla 3). También el marcador pico JHI-Hv50k-2016-204534 (3H) se asoció con E-A y NFH y esto se refleja en las correlaciones.

En E2 2016 fue donde se registró la correlación más fuerte entre filocrón y Z3.1-A, coincidiendo también en el QTL en 2Ha detectado para ambas variables.

Además del QTL mencionado anteriormente para filocrón en 2H, también se identificó para esta variable un QTL en 6H (JHI-Hv50k-2016-377180 - JHI-Hv50k-2016-378173) en E1 2016. Se ubica en la posición 21 cM de acuerdo al mapa POPSEQ\_2017 (Cantalapiedra *et al.*, 2015). No hay reportes previos para variables fenológicas en esta región.

Para NFH se registró otro QTL (JHI-Hv50k-2016-426839 - JHI-Hv50k-2016-430061) en 6H, en el ambiente E1 2016, pero en una región diferente a la que se asoció el filocrón. En la bibliografía, el marcador SCRI\_RS\_138188 aparece como referencia al marcador pico JHI-Hv50k-2016-428664 reportado para la variable % o concentración de carbono en un estudio de GWAS en cebada (Naz *et al.*, 2017).

Utilizando una población derivada de parentales contrastantes para duración de ciclo y respuesta al fotoperíodo, se identificaron regiones genómicas con efecto en la fenología y la respuesta al fotoperíodo en los cromosomas 1H, 2H y 3H. También se pudo detectar asociación genotípica con dos variables novedosas en nuestros trabajos, como son NFH y filocrón. Estos QTL se detectaron en la misma región que las variables fenológicas y, además, en siembra temprana tanto para filocrón como para NFH se detectaron QTL en 6H. Estos resultados, por un lado, confirman hallazgos previos sobre las bases genéticas que modulan el desarrollo y la fenología del cultivo de cebada cervecera en las condiciones locales y, por otro lado, aportan la posibilidad de seguir investigando sobre las nuevas variables detectadas (NFH, filocrón) y la asociación de estas con la fenología.

### 3.7. CONCLUSIONES

Para la población I. Ceibo x N. Carumbé, la duración del ciclo y sus subfases fue mayor durante el año de mayor temperatura promedio, el NFH desarrollado y el filocrón fueron mayores y en siembras tardías del mismo año. Para todas las variables existió segregación transgresiva.

Por otro lado, E-A correlacionó positivamente con NFH, sobre todo en siembras tardías, mientras que la relación E-A y filocrón fue moderada en las dos siembras del año 2016. NFH y filocrón presentaron una correlación débil y negativa en siembras tempranas, y positiva pero muy moderada en siembras tardías.

Se detectaron QTL para las variables E-A. Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A, para respuesta al fotoperíodo, para el NFH, el filocrón y la altura. La mayoría de estos QTL se ubicaron en la misma región dentro de los cromosomas 1H, 2H y 3H. Por su posición podemos especular que la zona en 2H es cercana a la ubicación del gen *Ppd-H1* y la región en 3H es cercana a las descripciones bibliográficas para el gen *sdw1*.

Se detectó un QTL para filocrón y otro para NFH en 6H en siembra temprana.

### 3.8. BIBLIOGRAFÍA

- Alqudah, A.M., Youssef, H.M., Graner, A., and Schnurbusch, T. 2018. Natural variation and genetic make-up of leaf blade area in spring barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 131: 873–886.
- Alqudah, A.M., Koppolu, R., Wolde, G.M., Graner, A., and Schnurbusch, T. 2016. The genetic architecture of barley plant stature. *Frontiers in Genetics*, 7(117). doi: 10.3389/fgene.2016.00117.
- Alqudah, A.M., Sharma, R., Pasam, R.K., Graner, A., Kilian, B., and Schnurbusch, T. 2014. Genetic dissection of photoperiod response based on GWAS of pre-anthesis phase duration in spring barley. *PLoS ONE*, 9, e113120. doi.org/10.1371/journal.pone.0113120.
- Baga, M., Fowler, D. B., and Chibbar, R.N. 2009. Identification of genomic regions determining the phenological development leading to floral transition in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 60(12): 3575–3585.
- Borras, G., Romagosa, I., van Eeuwijk, F., and Slafer, G.A. 2009. Genetic variability in duration of pre-heading phases and relationships with leaf appearance and tillering dynamics in a barley population. *Field Crops Research*, 113: 95–104.
- Borras, G., Slafer, G.A., Casas, A.M., van Eeuwijk, F., and Romagosa, I. 2010. Genetic control of pre-heading phases and other traits related to development in a double-haploid barley (*Hordeum vulgare* L.) population. *Field Crops Research*, 119: 36-47.
- Borras, G., Rebetzke, G.J., Richards, R.A., and Romagosa, I. 2012. Genetic control of duration of pre-anthesis phases in wheat (*Triticum aestivum* L.) and relationships to leaf appearance, tillering, and dry matter accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 63(1): 69–89.
- Cantalapiedra, C.P., Boudiar, R., Casas, A.M., Igartua, E., and Contreras-Moreira, B. 2015. BARLEYMAP: physical and genetic mapping of nucleotide sequences and annotation of surrounding loci in barley. *Molecular Breeding*, 35(13). doi.org/10.1007/s11032-015-0253-1.

- Cao, W., and Moss, D.N. 1989. Daylength effect on leaf emergence and phyllochron in wheat and barley. *Crop Science*, 29: 1021-1025.
- Castro, A.J., Cuesta-Marcos, A., Hayes, P.M., Locatelli, A., Macaulay, M., Mastandrea, N., Silveira, M., Thomas, W.T.B., and Viega, L. 2017. The completely additive effects of two barleyphenology related genes (*eps2S* and *sdw1*) are explained by specific effects at different periods within the crop growth cycle. *Plant Breeding*, 1–8.
- Castro, A.J., Hayes, P., Viega, L., and Vales, I. 2008. Transgressive segregation for phenological traits in barley explained by two major QTL alleles with additivity. *Plant Breeding*, 127: 561-568.
- Collard, B.C., Jahufer, M.Z., Brouwer, J.B., and Pang, E.C. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142: 169-196.
- Eagle, J., Ruff, T., Hooker, M., Sthapit, S., Marston, E., Marlowe, K., Covarrubias, D., Skinner, D., Hayes, P., Sherman, P., and See, D. 2021. Genotyping by multiplexed sequencing (GMS) protocol in barley. *Euphytica*, 217(77). <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02811-1>.
- Fernández-Calleja, M., Casas, A.M., and Igartua, E. 2021. Major flowering time genes of barley: allelic diversity, effects, and comparison with wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. [doi.org/10.1007/s00122-021-03824-z](https://doi.org/10.1007/s00122-021-03824-z).
- Grignola, P. 2018. Factores genéticos que afectan las sub-fases de la fenología de una población de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en Uruguay. Tesis magíster en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Paysandú, Uruguay.
- Haun, J.R. 1973. Visual quantification of wheat development. *Agronomy Journal*, 65: 116-119.
- IBSC. A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. 2012. *Nature*. 491:711-16. [doi:10.1038/nature11543](https://doi.org/10.1038/nature11543).
- Jia, Q., Zhang, J., Westcott, S., Zhang, X.-Q., Bellgard, M., Lance, R., and Li, C. 2009. GA-20 oxidase as a candidate for the semidwarf gene *sdw1/denso* in barley. *Functional & Integrative Genomics*, 9: 255–262.

- Laurie, D.A., Pratchett, N., Bezant, J.H., and Snape, J.W. 1995. RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter x spring barley (*Hordeum vulgare* L) cross. *Genome*, 38: 575–585.
- Lê, S., Josse, J., and Husson, F. 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25: 1–18.
- Locatelli, A. 2011. Bases genéticas de las variables agronómicas de interés local en el germoplasma de cebada (*Hordeum vulgare* L.) utilizado en Uruguay. Tesis magíster en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Paysandú, Uruguay.
- Locatelli, A., Cuesta-Marcos, A., Gutiérrez, L., Hayes, P.M., Smith, K.P., and Castro, A.J. 2013. Genome-wide association mapping of agronomic traits in relevant barley germplasm in Uruguay. *Molecular Breeding*, 31: 631–654.
- Locatelli, A., Bhatta, M., Gutiérrez, L., Mastandrea, N., Viega, L., and Castro, A.J. 2022. Genetic control of barley phenology in South American environments. *Euphytica*, 218:53. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-02993-2>.
- Mascher, M., Gundlach, H., Himmelbach, A., Beier, S., ... and Stein, N. 2017. A chromosome conformation capture ordered sequence of the barley genome. *Nature*, 544: 427-433.
- Naz, A. A., Reinert, S., Bostanci, C., Seperi, B., Leon, J., Böttger, C., Südekum, K-H., and Frei, M. 2017. Mining the global diversity for bioenergy traits of barley straw: genomewide association study under varying plant water status. *GCB Bioenergy*, 9, 1356–1369, doi: 10.1111/gcbb.12433.
- Ochagavía, H., Prieto, P., Zikhali, M., Griffiths, S., and Slafer, G.A. 2019. Earliness per se by temperatura interaction on wheat development. *Scientific Reports*, 9:2584, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39201-6>.
- Ochagavía, H., Kiss, T., Karsai, I., Casas, A.M., and Igartua, E. 2022. Responses of barley to high ambient temperature are modulated by vernalization. *Frontiers in Plant Science*, 12:776982.
- Sameri, M., Pourkheirandish, M., Chen, G., Tonooka, T., and Komatsuda, T. 2011. Detection of photoperiod responsive and non-responsive flowering time QTL in barley. *Breeding Science*, 61: 183–188.

- Slafer, G.A., Kantolic, A.G., Appendino, M.L., Tranquilli, G., Miralles, D.J., and Savin, R. 2015. Genetic and environmental effects on crop development determining. En V.O. Sadras, D. F. Calederini (eds.), *Adaptation and yield Crop, Physiology Applications for Genetic Improvement and Agronomy* (285-319). Elsevier.
- Taylor, J., and Butler, D. 2017. R package ASMap: efficient genetic linkage map construction and diagnosis. *Journal of Statistical Software* 79, 1–29
- Trevaskis, B. 2010. The central role of the VERNALIZATION1 gene in the vernalization response of cereals. *Functional Plant Biology*, 37: 479–487.
- Turner, A., Beales, J., Faure, S., Dunford, R.P., and Laurie, D.A. 2005. The pseudo response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley. *Science*, 310: 1031-1034.
- Wang, S., Basten, C.J., and Zeng, Z-B. 2005. *Windows QTL Cartographer 2.5*. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Wu, Y., Bhat, P.R., Close, T. J., and Lonardi, S. 2008. Efficient and accurate construction of genetic linkage maps from the minimum spanning tree of a graph. *PloS Genetics*. 4, e1000212. doi: 10.1371/journal.pgen.1000212.
- Xu, Y., Jia, Q., Zhou, G., Zhang, X-Q., Angessa, T., Broughton, S., Yan, G., Zhang, W., and Li, C. 2017. Characterization of the sdw1 semi-dwarf gene in barley. *BMC Plant Biology*, 17:11, doi 10.1186/s12870-016-0964-4
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., and Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14: 415-421.

## 4. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

### 4.1. FENOLOGÍA DEL CULTIVO Y RASGOS ASOCIADOS

El rendimiento potencial de los cultivos está definido por el genotipo y el ambiente. En las condiciones de producción nacional, al cultivo de cebada podemos asociarlo a genotipos que en general presentan pocos o nulos requerimientos de vernalización y diferentes niveles de respuesta al fotoperíodo. Desde el punto de vista del ambiente, siembras tempranas, durante los meses de mayo o junio, permiten el desarrollo del cultivo en condiciones favorables, lo que lleva a obtener los máximos rendimientos posibles o una optimización del rendimiento. Retrasos en la fecha de siembra, ubicando el crecimiento del cultivo en meses con fotoperíodos y temperaturas en aumento, implican tasas de desarrollo mayor y, por ende, ciclos a floración más cortos, con la penalización en el rendimiento que esto conlleva.

La caracterización fenológica de los cultivares utilizados como testigos en el presente trabajo evidenció que no todos los materiales responden de la misma manera al ambiente. Las respuestas identificadas en condiciones de mayores temperaturas pueden aportar, en una perspectiva de calentamiento global y cambio climático, indicios sobre las posibles interacciones genotipo x ambiente futuras.

Durante el año de mayor temperatura promedio, algunos cultivares, sobre todo los que mostraron poca respuesta al fotoperíodo, tuvieron una mayor duración del ciclo a antesis, particularmente en siembras tempranas, correspondientes al mes de junio. Este comportamiento no solo ocurrió con los cultivares testigos, sino que también se repite en la población estudiada, que surge del cruzamiento de dos de los cultivares analizados en la primera parte del trabajo. Tanto el ciclo a antesis como las subfases E-Z2.1, Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A tuvieron mayor duración el año de mayor temperatura promedio.

También durante el año 2017, cuando la temperatura promedio fue 2 °C mayor, todos los cultivares desarrollaron un número final de hojas mayor durante las siembras del mes de junio (que implicaron condiciones bajo fotoperíodos inferiores a 12 h en la latitud de Uruguay). En siembras tardías, donde las temperaturas y los fotoperíodos van en aumento y, por tanto, el ciclo a floración se reduce considerablemente, la mayoría de los cultivares también desarrolló más hojas el año de mayor temperatura. En lo que refiere la población RIL analizada, la respuesta para el NFH fue la misma que en los testigos, en las dos épocas de siembra el número de hojas desarrolladas promedio fue mayor durante el año 2017.

El valor del filocrón se mantuvo sin cambios entre los dos años en fechas de siembra tempranas, aunque en la época tardía los cultivares Bowman, I. Ceibo y E. Quebracho mostraron mayores valores de filocrón durante el año más cálido. Existen trabajos reportados con datos similares (Karsai et al., 2013, Tamaki, 2002) y esto tiene la particularidad de que podemos especular con que las hojas desarrollándose en ambientes con temperaturas más altas tengan tasas de aparición más bajas, algo contrario a lo que esperaríamos intuitivamente. Estos datos, de mayor filocrón en 2017 para siembras tardías, no solo se reducen a los cultivares testigos, sino que las RILs de la población presentaron la misma respuesta.

En el análisis de los cultivares testigos se observó una correlación positiva entre la duración E-A con el NFH y el valor del filocrón en las siembras tardías, también reportada por Ochagavía et al. (2022), Pérez-Gianmarco et al. (2018) y Borrás et al. (2009). También en siembra temprana del año 2017 existió correlación positiva entre ciclo y NFH, lo que sugiere una relación del número de hojas con el ciclo a antesis no solo en ambientes de menor potencial para el crecimiento y rendimiento de estos cultivares, sino también en ambientes de siembra temprana que experimentan temperaturas en ascenso.

Por otro lado, la correlación negativa entre NFH y filocrón en siembras tempranas y la independencia de estas variables con E-A podría explicarse en parte por la diversidad

de cultivares en cuanto a la sensibilidad al fotoperíodo expresados en una temporada de desarrollo larga. En contraste a lo anterior, para la población de mapeo, más allá de que se mantuvo la asociación del ciclo con el NFH, particularmente en siembras tardías, la correlación con el filocrón fue bastante más baja que la evidenciada para los testigos. Por otro lado, a diferencia de lo ocurrido para los testigos, la relación NFH y filocrón, en la población casi no se detecta y es relativamente moderada solo en E2 2016, manteniendo la asociación positiva mostrada también por los testigos.

#### 4.2 ASPECTOS GENÉTICOS SOBRE LA FENOLOGÍA Y RASGOS ASOCIADOS

Algunas variables de interés agrícola (rendimiento, calidad o resistencia a enfermedades) que están controladas por muchos genes se consideran variables cuantitativas, y las regiones dentro de los genomas que contienen genes asociados con un rasgo cuantitativo particular se conocen como loci de rasgos cuantitativos (QTL) (Collard et al., 2005). A través del mapeo de QTL, se pueden detectar las asociaciones entre datos fenotípicos y genotípicos en poblaciones específicamente desarrolladas (Riaz et al., 2021). En este trabajo se detectaron QTL para fenología correspondiente a E-A y las subfases Z2.1-Z3.1 y Z3.1-A, para respuesta al fotoperíodo y para las variables NFH, filocrón y altura de planta en los cromosomas 1H, 2H, 3H, 6H y 7H.

Las asociaciones con fenología, filocrón y NFH en 2H se ubicaron en una única región, corresponden en su mayoría a ambientes de siembra tardía, y el parental que aporta el alelo de mayor valor en todos los casos es N. Carumbé, un cultivar con poca sensibilidad al fotoperíodo, lo que explicaría la mayor duración del ciclo y las subfases en ambientes tardíos.

En 3H se identificaron efectos de QTL coincidentes para E-A, Z2.1-Z3.1 y NFH, principalmente en ambientes de siembras tempranas de los dos años, en una misma región cromosómica, y en este caso es I. Ceibo, un cultivar con respuesta al

fotoperíodo, el que aporta el alelo de mayor valor. Para la variable altura, en la misma región, es N. Carumbé el que aporta el alelo de mayor valor.

Si bien, de acuerdo a la bibliografía, es muy difícil señalar específicamente un gen a partir del QTL, ya que en una distancia de entre 20-30 cM existen centenares de genes y miles de polimorfismos y que intervalos de confianza menores a 1 cM serían ideales para encontrar candidatos posicionales firmes (Pérez-Enciso 2004), pueden hacerse algunas especulaciones en función de la posición de los intervalos detectados y de algunos de los marcadores pico identificados. Se puede considerar que, en el 2H, los efectos de QTL coincidentes están en la región donde se reporta a *Ppd-H1*, principal gen de respuesta al fotoperíodo (Laurie et al., 1995) en la especie, ya detectado por Grignola (2018) también en ambientes tardíos. Los efectos coincidentes de QTL detectados en el 3H están en la región donde la bibliografía reporta la ubicación del gen *sdw1* gen de semenanismo que afecta altura de planta (Jia et al., 2009) y controla la subfase Z2.0-Z3.0 (Castro et al., 2017).

Los QTL identificados en 6H tanto para NFH como para filocrón, son novedosos y abren la posibilidad de seguir profundizando en aspectos que tengan que ver con su expresión, su relación con la duración del ciclo a floración y las fases preantesis y la interacción con el ambiente, particularmente la interacción con la temperatura preponderante.

A partir del comportamiento interanual se desprende que un año cálido se asoció con ciclos a antesis mas largos en la mayoría de los cultivares y esto estuvo principalmente correlacionado a un mayor NFH. Este rasgo aparece como determinante a la hora de modular el desarrollo, más que la tasa de aparición de hojas. Esto tiene su correlato en los QTL detectados, donde en 2H y 3H los rasgos fenológicos estuvieron asociados a NFH en los cuatro ambientes y solo en un ambiente a filocrón. Mas allá de la particularidad del año, cultivares que desarrollan mayor NFH asociado a ciclo a antesis de mayor duración se podrían posicionar como buenos candidatos para utilizar en siembras intermedias o tardías (ej. mayor acumulación de biomasa). Además,

materiales con poca sensibilidad al fotoperíodo podrían contrarestar las altas tasas de desarrollo que promueven ambientes de altas temperaturas y fotoperíodos en aumento.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Abeledo LG, Calderini DF, Slafer GA. 2004. Leaf appearance, tillering and their coordination in old and modern barleys from Argentina. *Field Crops Research* 86, 23-32.
- Alqudah AM, Schnurbusch T. 2014. Awn primordium to tipping is the most decisive developmental phase for spikelet survival in barley. *Functional Plant Biology* 41, 424-436.
- Asins MJ. 2002. Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding. *Plant Breeding* 121, 281-291.
- Basavaraddi PA, Savin R, Wingen LU, Bencivenga S, Przewieslik AM, Griffiths S, Slafer GA. 2021. Interactions between two QTLs for time to anthesis on spike development and fertility in wheat. *Scientific Reports*. 11:2451. doi.org/10.1038/s41598-021-81857-6.
- Bentley AR, Horsnell R, Werner CP, Turner AS, Rosel GA, Bedard C, Howell P, Wilhelm EP. 2013. Short, natural, and extended photoperiod response in BC2F4 lines of bread wheat with different Photoperiod-1 (Ppd-1) alleles. *Journal of Experimental Botany* 64 (7), 1783-1793.
- Borras G, Romagosa I, van Eeuwijk F, Slafer GA. 2009. Genetic variability in duration of pre-heading phases and relationships with leaf appearance and tillering dynamics in a barley population. *Field Crops Research* 113, 95-104.
- Borras G, Slafer GA, Casas AM, van Eeuwijk F, Romagosa I. 2010. Genetic control of pre-heading phases and other traits related to development in a double-haploid barley (*Hordeum vulgare* L.) population. *Field Crops Research* 119, 36-47.

- Boyd WJR, Li C, Grime C, Cakir M, Potipibool S, Kaveeta L, Men S, Jalal Kamali M, Barr A, Moody D, Lance R, Logue S, Raman H, Read BJ. 2003. Conventional and molecular genetic analysis of factors contributing to variation in the timing of heading among spring barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes grown over a mild winter growing season. *Australian Journal of Agricultural Research* 54, 1277- 1301.
- Brooking IR, Jamieson PD, Porter JR. 1995. The influence of daylength on final leaf number in spring wheat. *Field Crops Research* 41, 155-165.
- Castro A, Ernst O, Hoffman E, Bentancur O. 1997. Barley germoplasm characterization using agronomic and quality traits. *Agrociencia* 1, 80-87.
- Castro A. 2007. Utilización de herramientas genómicas en el mejoramiento de cebada en Uruguay. En: Reunión Mesa Nacional de Cebada 2007.
- Castro AJ, Hayes P, Viega L, Vales I. 2008. Transgressive segregation for phenological traits in barley explained by two major QTL alleles with additivity. *Plant Breeding* 127, 561-568.
- Castro AJ, Cuesta-Marcos A, Hayes PM, Locatelli A, Macaulay M, Mastandrea N, Silveira M, Thomas WTB, Viega L. 2017. The completely additive effects of two barley phenology related genes (*eps2S* and *sdw1*) are explained by specific effects at different periods within the crop growth cycle. *Plant Breeding*, 2017;00:1-8. DOI: 10.1111/pbr.12509
- Cao W, Moss DN. 1989. Daylength Effect on Leaf Emergence and Phyllochron in Wheat and Barley. *Crop Science* 29, 1021-1025.
- Collard BC, Jahufer MZ, Brouwer JB, Pang EC. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142, 169-196.
- Cuesta-Marcos A, Muñoz-Amatrián M, Filichkin T, Karsai I, Trevaskis B, Yasuda S, Hayes P, Sato K. 2015. The relationships between development and low temperature tolerance in barley near isogenic lines differing for flowering behavior. *Plant Cell Physiol.* 56 (12), 2312-2324.
- DIEA. Estadísticas Agropecuarias. 2022. Encuesta Agrícola «Primavera 2022». 18 diciembre 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio->

ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/noticias/diea-presenta-resultados-encuesta-agricola-primavera-2022

- Digel B, Tavakol E, Verderio G, Tondelli A, Xu X, Cattivelli L, Rossini L, von Korff M. 2016. Photoperiod-H1 (Ppd-H1) controls leaf size. *Plant Physiology* 172, 405-415.
- Dofing SM. 1999. Inheritance of Phyllochron in Barley. *Crop Science* 39, 334-337.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. 2023. [En línea] 18 diciembre 2023. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Fernández-Calleja M, Casas AM, Igartua E. 2021. Major flowering time genes of barley: allelic diversity, effects, and comparison with wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 134, 1867-1897 doi.org/10.1007/s00122-021-03824-z.
- Frank AB, Bauer A. 1995. Phyllochron Differences in Wheat, Barley, and Forage Grasses. *Crop Science* 35, 19-23.
- González S, Xavier A. 2000. Definición del número de hojas por tallo y del número de granos por espiga en cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.). Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía.
- Hemming MN, Peacock WJ, Dennis ES, Trevaskis B. 2008. Low-temperature and daylength cues are integrated to regulate FLOWERING LOCUS T in barley. *Plant Physiology* 147, 355-366.
- Jamieson P, Brooking I, Zyskowski R, Munro C. 2008. The vexatious problem of the variation of the phyllochron in wheat. *Field Crops Research* 108, 163-168.
- Jia Q, Zhang J, Westcott S, Zhang X, Bellgard M, Lance R, Li C. 2009. GA-20 oxidase as a candidate for the semidwarf gene *sdw1/denso* in barley. *Functional & Integrative Genomics* 9, 255-262.
- Kernich GC, Slafer GA, Halloran GM. 1995. Barley development as affected by rate of change of photoperiod. *Journal of Agricultural Science* 124, 379-388.
- Kirby EJ, Appleyard M, Fellowes G. 1985. Effect of sowing date and variety on main shoot leaf emergence and number of leaves of barley and wheat. *Agronomie* 5(2), 117-126.

- Kirby EJM. 1990. Co-ordination of leaf emergence and leaf and spikelet primordium initiation in wheat. *Field Crops Research* 25, 253-264.
- Kuczyńska A, Mikołajczak K, Cwiek H. 2014. Pleiotropic effects of the *sdw1* locus in barley populations representing different rounds of recombination. *Electronic Journal of Biotechnology* 17, 217-223.
- Laurie DA, Pratchett N, Bezant JH, Snape JW. 1995. RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter x spring barley (*Hordeum vulgare* L) cross. *Genome* 38, 575-585.
- Locatelli A. 2011. Bases genéticas de las variables agronómicas de interés local en el germoplasma de cebada (*Hordeum vulgare* L.) utilizado en Uruguay. Tesis magíster en Ciencias Agrarias. Paysandú, Uruguay. Facultad de Agronomía.
- Locatelli A, Cuesta-Marcos A, Gutiérrez L, Hayes PM, Smith KP, Castro AJ. 2013. Genome-wide association mapping of agronomic traits in relevant barley germplasm in Uruguay. *Molecular Breeding* 31, 631-654.
- Locatelli A, Bhatta M, Gutiérrez L, Mastandrea N, Viega L, Castro AJ. 2022. Genetic control of barley phenology in South American environments. *Euphytica*, 218:53.
- Mastandrea N. 2015. Variabilidad en la duración de los ciclos y sub fases dentro del germoplasma de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) utilizado en Uruguay. Tesis grado. Licenciatura en Ciencias Biológicas. Montevideo, Uruguay. Facultad de Ciencias.
- McMaster GS, Moragues M. 2018. Crop development related to temperature and photoperiod. RA Meyers (ed.), *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology* (1-20).
- Miyamoto N, Goto Y, Matsui M, Ukai Y, Morita M, Nemoto K. 2004. Quantitative trait loci for phyllochron and tillering in rice. *Theoretical and Applied Genetics*. 109, 700-706.
- Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M, Bhatia CR, Sasaki T. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3, 87-103.

- Molina Cano JL. 1989. La cebada. Morfología, fisiología, genética, agronomía y usos industriales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Muñoz-Amatriaín M, Cuesta-Marcos A, Endelman JB, Comadran J, Bonman JM, Bockelman HE, Chao S, Russell J, Waugh R, Hayes PM, Muehlbauer GJ. 2014. The USDA barley core collection: genetic diversity, population structure, and potential for genome-wide association studies. PLoS ONE 9(4): e94688. doi:10.1371/journal.pone.0094688.
- Ochagavía H, Prieto P, Savin R, Griffiths S, Slafer GA. 2017. Duration of developmental phases, and dynamics of leaf appearance and tillering, as affected by source and doses of photoperiod insensitivity alleles in wheat under field conditions. *Field Crops Research*, 214, 45-55.
- Ochagavía, H., Kiss, T., Karsai, I., Casas, A.M., and Igartua, E. 2022. Responses of barley to high ambient temperature are modulated by vernalization. *Frontiers in Plant Science*, 12:776982.
- Riaz A, Kanwal F, Börner A, Pillen K, Dai F, Alqudah AM. 2021. Advances in Genomics-Based Breeding of Barley: Molecular Tools and Genomic Databases. *Agronomy* 11, 894. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050894>
- Richards RA. 1991. Crop improvement for temperate Australia: Future opportunities. *Field Crops Research* 26, 141-169.
- Sato K. 2020. History and future perspectives of barley genomics. *DNA Research*, 2020, 00 (0), 1-8. doi: 10.1093/dnares/dsaa023.
- Sato K, Ishii M, Takahagi K, Inoue K, Shimizu M, Uehara-Yamaguchi Y, Nishii R, Mochida K. 2020. Genetic factors associated with heading responses revealed by field evaluation of 274 barley accessions for 20 seasons. *iScience* 23, 101146.
- Slafer GA, Connor DJ, Halloran GM. 1994. Rate of Leaf Appearance and Final Number of Leaves in Wheat: Effects of Duration and Rate of Change of Photoperiod. *Annals of Botany* 74 (5), 427-436.
- Slafer GA, Rawson HM. 1997. Phyllochron in wheat as affected by photoperiod under two temperature regimes. *Australian Journal of Plant Physiology* 24, 151-158.

- Slafer GA. 2003. Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Annals of Applied Biology*. 142, 117-128.
- Slafer GA, Kantolic AG, Appendino ML, Tranquilli G, Miralles DJ, Savin, R. 2015. Genetic and environmental effects on crop development determining. En Sadras VO, Calederini DF (eds.). *Adaptation and yield Crop, Physiology Applications for Genetic Improvement and Agronomy* (285-319). Elsevier.
- Takahashi R., Yasuda, S. 1970. Genetics of earliness of growth habit in barley. En R Nilan (ed.). *Barley Genetics II* (388-408). Pullman: Washington State University Press.
- Turner A, Beales J, Faure S, Dunford RP, Laurie DA. 2005. The pseudo response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley. *Science* 310, 1031-1034.
- Viega L, Hoffman E, González S, Olivo N .2005. Potencial de producción de cebada cervecera en Uruguay. Definición del número de granos por espiga. Facultad de Agronomía, Nota Técnica n.o 52, Montevideo.
- Whitechurch EM, Slafer GA, Miralles DJ. 2007. Variability in the duration of stem elongation in wheat and barley genotypes. *Journal of Agronomy & Crop Science* 193, 138-145.
- Wilhelm WW, McMaster GS. 1995. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. *Crop Science* 35, 1-3.
- Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*. 14, 415-421.