

FENOLOGÍA Y ADAPTACIÓN DE LA CEBADA

Ernesto Igartua¹, Alfonso Cuesta⁵, José Manuel Lasa¹, María Pilar Gracia¹, Samia Yahiaoui⁶, Marian Moralejo², José Luis Molina-Cano³, Francisco J. Ciudad⁴ y Ana María Casas¹

1 Estación Experimental de Aula Dei, CSIC, Apdo 13034, 50080- Zaragoza

2 Dep. de Química, ETSEA, Univ.de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure, 191, 25198 Lleida/Lérida

3 Área de Cultivos Extensivos, IRTA, Av. Rovira Roure 191, E-25198 Lleida/Lérida

4 Instituto de Tecnología Agraria, Junta de Castilla y León, Apartado 172, 47071, Valladolid

5 Dirección actual: Dept of Crop and Soil Science, Oregon State University, Corvallis, OR 97331, EEUU

**6 Dirección actual: INRA Argelia, Argel
E-mail: igartua@eead.csic.es**

La fenología es la ciencia que estudia la aparición de eventos en el desarrollo de los organismos vivos (por ejemplo, la floración o la hibernación) en respuesta a factores climáticos (umbrales de temperatura, temperaturas acumuladas, precipitación, etc). Por extensión, los caracteres fenológicos son características observables y medibles de los organismos que hacen referencia a alguno de esos eventos.

Las respuestas fenológicas han sido una de las categorías tradicionales de clasificación, tanto popular como taxonómica, de muchos organismos. Por un lado son fáciles de observar y por otro, sobre todo, son de gran utilidad práctica. Describen los ciclos de las especies de interés para el hombre, como los cultivos, y han servido como hitos de los calendarios naturales desde el inicio de la agricultura. Los cereales de invierno no han sido una excepción, y en este capítulo describiremos su principal carácter fenológico, el comienzo de la floración, y las implicaciones agronómicas que tiene.

7.1. UNOS CULTIVOS MUY ADAPTABLES

7.1.1. Variedades de invierno y de primavera

Los cereales de grano pequeño se dividen en dos tipos de variedades, conocidas como “de invierno” y “de primavera”. Las variedades de invierno se siembran en otoño, florecen al comienzo de la primavera y se cosechan al final de ésta o al principio del verano. Las variedades de primavera se siembran en invierno o primavera (según las zonas) y se cosechan durante el verano.

Los agricultores conocen bien esta clasificación desde muy antiguo. El clásico gaditano-romano Lucio Juno Moderato Columela ya describió dos tipos principales de cebada presentes en la Hispania romana del siglo I, en uno de los primeros tratados publicados sobre agricultura (Columela, ca. 50, pp. 52-53). Por un lado estaba la cebada hexástica o caballuna, de seis carreras, que se debía sembrar entre el 5 de noviembre y el solsticio de invierno. Por otro, la cebada dística o galática, de dos carreras, que se sembraba en los mejores lugares de clima frío hacia el mes de marzo, aunque podía adelantarse su siembra hasta el 15 de enero si lo templado del invierno lo permitía.

Sorprende la vigencia de una descripción escrita hace 1900 años, pues esa situación se asemeja bastante a la actual, y es prácticamente similar a la que había en España antes de la introducción de las variedades modernas, en la segunda mitad del siglo XX.

7.1.2. ¿Qué diferencia a las variedades de invierno de las de primavera?

Para responder a esta pregunta debemos remitirnos a la propia naturaleza de las plantas terrestres. Éstas son organismos sésiles que no pueden escapar ni buscar refugio ante las condiciones adversas. Necesitan, por tanto, disponer de mecanismos que les permitan soportar las variaciones de las condiciones ambientales. Uno de estos mecanismos es la capacidad de alterar su programa de desarrollo en respuesta a los estímulos ambientales. Gracias a la modulación de su programa de desarrollo, las plantas se aseguran de que la floración ocurre en el momento en el que existe la mayor probabilidad de éxito para la polinización, el desarrollo y la dispersión de la semilla.

Un “interruptor” importante en el programa de desarrollo es el que marca la transición del estado vegetativo al reproductivo, el comienzo de la floración. En muchas especies, esta transición está determinada por los cambios estacionales que son detectados por la planta. El fotoperiodo y la temperatura son dos de las principales señales ambientales que las plantas detectan para activar este “interruptor” que determina la época correcta para florecer.

Una reacción específica a la temperatura en las plantas es el requisito de exposición a un periodo de bajas temperaturas, para que la planta adquiera la capacidad de realizar la transición del estado vegetativo al estado reproductivo y de florecer. Este mecanismo, que recibe el nombre de “vernalización”, previene el desarrollo de las flores durante el invierno, proporcionando protección contra el frío a los órganos florales.

En muchas especies de plantas, la vernalización requiere una exposición larga a las bajas temperaturas de un invierno típico. Es una adaptación útil, porque muchas especies que requieren vernalización tienen un hábito bianual: De este modo las plantas comienzan a crecer durante el primer año, pero florecen en la primavera del segundo año de crecimiento. En las especies que requieren vernalización, es crucial que las plantas no sean “engañadas” para florecer al final del otoño, tras una exposición transitoria al frío seguida por condiciones todavía cálidas, pero con las temperaturas potencialmente letales del invierno por delante. Este es el motivo de que el requerimiento de frío deba ser por un periodo prolongado. El florecimiento de muchas especies que requieren de vernalización también se promueve por la exposición a fotoperiodos largos, y este requisito proporciona otro dispositivo de seguridad para impedir que la floración ocurra al final del otoño, cuando los días son cortos (Sung y Amasino, 2004).

En los cereales, la denominación de “genotipos de invierno” se ha considerado sinónimo de genotipos que requieren vernalización. Actualmente se consideran como genotipos de invierno aquellos en los que se necesita una señal externa para inducir el paso a la fase reproductiva, pudiendo ser ésta una acumulación de horas de frío (Limin y Fowler, 2002) y/o un fotoperiodo de suficiente duración (Karsai et al., 1999). Habitualmente, los genotipos de invierno que tienen sensibilidad al fotoperiodo, sólo la manifiestan cuando las necesidades de vernalización se han satisfecho completamente (Bernier et al., 1981). Los genotipos de primavera serían aquellos que no tienen requerimiento de vernalización y falta de respuesta al día largo.

Aunque hay que aclarar que esta clasificación resulta un tanto simplificada, pues las respuestas existentes, al menos en la cebada, difícilmente se ajustan a una situación de blanco o negro, sino más bien a toda una gama de grises, con genotipos adaptados a una serie de situaciones intermedias.

7.1.3. ¿Cómo se desarrollaron estos tipos de variedades?

Las reflexiones del apartado anterior son válidas para los ancestros silvestres de los cereales de grano pequeño actuales, en sus hábitats naturales. Las especies actuales que se consideran más cercanas a los ancestros silvestres del trigo y la cebada son *Triticum monococcum* ssp *aegilopoides* (Link) Thell., *Triticum turgidum* ssp *dicoccoides* (Körn ex Asch. & Graebner) Thell, y *Hordeum vulgare* ssp *spontaneum* (K. Koch) Thell. Aunque no se han cerrado las disputas sobre otros posibles centros de origen, hay un amplio consenso que admite el área conocida como Creciente Fértil como uno de ellos. Hay evidencias de que en esa zona, los ancestros silvestres del trigo y la cebada crecían de modo espontáneo, y ya eran cosechados para consumo hace aproximadamente de 10.000 a 13.000 años (Feldman, 2001). Siguiendo a Cockram et al. (2007a), es razonable pensar que estas especies están adaptadas al clima de esa área, donde la mayor parte de la precipitación cae entre la segunda parte del otoño y el comienzo de la primavera, al que siguen unos meses cálidos y secos. Estas especies han desarrollado estrategias para maximizar su supervivencia, usando las lluvias del otoño para establecer las estructuras vegetativas antes del invierno, y empleando la vernalización para retrasar la floración hasta que el peligro de heladas ha pasado. Además, la capacidad de detectar y responder al aumento del fotoperiodo les permite florecer y llenar la espiga antes de las altas temperaturas del final de la primavera. De este modo, casi todos los ancestros silvestres de la cebada y el trigo desarrollaron un hábito de crecimiento invernal, con la excepción de algunas entradas de cebada silvestre que se consideran híbridos con cultivares de primavera (Takahashi et al., 1963, 1968). Los primeros cereales que se domesticaron en el Creciente Fértil compartieron probablemente estos fenotipos de sus ancestros silvestres.

Sin embargo, hoy en día la cebada tiene uno de los rangos de adaptación más extensos de todas las especies cultivadas. Actualmente se cultiva en un área de aproximadamente 55 millones hectáreas, en regiones fértiles o marginales, desde el nivel del mar hasta los 4.500 m de altitud en el Himalaya, desde países tropicales como Colombia hasta zonas cercanas al Círculo Polar Ártico en Norteamérica y Europa (von Bothmer et al., 2003). Se ha llegado a esta situación a través de la modificación de los patrones de desarrollo y el control del momento de la floración por medio de la selección humana, favoreciendo la producción máxima en cada ambiente.

Uno de los requisitos necesarios para que se haya producido la expansión de la producción de la cebada debe haber sido el desarrollo de un hábito de crecimiento de primavera (con un requerimiento de vernalización bajo o ausente). Este hábito es necesario para colonizar zonas en las que

las temperaturas excesivamente bajas impiden la supervivencia del cultivo durante el invierno (von Bothmer et al., 2003). Sólo se puede especular acerca de las causas que motivaron esa selección, pero es probable que los ciclos de crecimiento extremadamente cortos fueran preferidos por las comunidades Pre-Mesopotámicas con vida seminómada, y por las poblaciones que migraban hacia zonas con inviernos de fríos extremos, letales para la supervivencia de las plantas (Komatsuda y col, 2006).

Un rendimiento óptimo exige el ajuste del ciclo vital de los cereales a los recursos disponibles en los ambientes donde se cultivan. Como se ha comentado más arriba, el momento de la transición del crecimiento vegetativo al reproductivo es un interruptor crítico del desarrollo. La modulación de la ocurrencia de esa transición, buscando el momento óptimo para cada clima y región geográfica, ha sido uno de los principales recursos de los agricultores para maximizar sus cosechas en estos cultivos. Los ambientes templados con una estación de crecimiento larga permiten que las cosechas del cereal florezcan tarde en el año y exploten así un período vegetativo extendido para el almacenamiento de recursos. Por contra, la floración temprana se ha desarrollado como adaptación a las estaciones de crecimiento cortas. Con conocimiento o sin él, los agricultores a través de la historia y, por último, los mejoradores, han seleccionado las fechas de floración más adecuadas para aumentar la producción y adaptar el cultivo a distintas regiones ecogeográficas, con condiciones muy alejadas de las de sus ambientes originarios (Cockram y col, 2007a).

7.1.4. Evidencias de selección para los caracteres fenológicos

La relación entre la duración de las etapas de desarrollo de las plantas, y específicamente del tiempo que tardan en alcanzar la floración, y la definición de ecotipos y su distribución geográfica es un fenómeno ampliamente conocido en muchas especies. Actualmente, empieza a haber evidencias que relacionan ese fenómeno con la distribución alélica de los genes relacionados con el requerimiento de vernalización o con la respuesta al fotoperiodo, probablemente en respuesta a selección natural o artificial.

En *Arabidopsis*, varios autores han puesto de manifiesto la existencia de clinas latitudinales en el tiempo de desarrollo hasta floración y en la distribución de alelos de los genes *FRI* y *FLC*, fundamentales en la determinación de la respuesta a la vernalización en esta planta silvestre (Caicedo et al., 2004; Ehrenreich y Purugganan, 2006). En el arroz en cambio, como planta de día corto, los causantes de la distribución latitudinal de las variedades son algunos de los genes responsables de la respuesta al fotoperiodo (*Hd1* y *Ehd1*; Izawa, 2007). En la cebada, Cockram y col (2007a), pusieron de manifiesto una clara diferencia latitudinal en la distribución de los alelos del gen de respuesta al fotoperiodo largo, apareciendo el alelo sensible (*Ppd-H1*) en latitudes menores y el insensible (*ppd-H1*) en latitudes europeas más altas. Hoogendoorn (1985) puso de manifiesto la relación entre la fecha de emergencia de la espiga y la distribución geográfica de las variedades de *Triticum aestivum*. Kato et al. (1998), estudiando *T. dicoccoides* en Israel, demostraron que los genotipos de floración temprana están adaptados a zonas más cálidas y secas, mientras que las tardías lo están a zonas más frías y húmedas. Goldringer et al. (2006) obtuvieron resultados similares con *T. aestivum* en Francia. Young y Elliott (1994), pusieron de manifiesto la importancia de la fecha de espigado en la elección de zonas de cultivo y las fechas de siembra de la cebada en las condiciones del Oeste de Australia.

En las cebadas españolas autóctonas, se ha observado que la distribución de los ecotipos locales en la Península sigue claramente la distribución climática (Figura 4 en Yahiaoui et al. 2008). En ese estudio pudimos distinguir cómo las cebadas españolas de seis carreras se agrupan fundamentalmente en dos poblaciones diferenciadas genética y geográficamente, ubicándose una en los climas más continentales de la Meseta, con inviernos más fríos, y la otra en los climas más suaves del sur, de la costa de Levante y del valle del Ebro. Estas poblaciones presentaron además una frecuencia muy distinta del gen principal de respuesta a la vernalización en la cebada (*Vrn-H1*, que se describirá posteriormente), lo que puede indicar una adaptación específica al tipo de invierno predominante en cada región.

Algunos autores han tratado de imitar los procesos de selección que pudieron sufrir los cultivos en su dispersión fuera de los centros de origen o diversidad, y así evaluar los cambios genéticos que se pudieron producir como consecuencia de la adaptación a nuevos ambientes. Rhoné et al. (2008), crearon una población de trigo combinando 16 parentales, que fue sembrada y cosechada en diversas localidades francesas, a lo largo de un gradiente latitudinal y climático, sin selección artificial consciente durante 12 generaciones. Al evaluar las distintas generaciones a posteriori, comprobaron que había habido una selección disruptiva a favor del hábito de crecimiento de invierno, y de ciertos alelos de los 3 genes *VRN-1* (ortólogos de *Vrn-H1*, correspondientes a los tres genomas del trigo harinero), fuertemente involucrados en la respuesta a la vernalización, en el norte de Francia, y a favor del hábito de crecimiento de primavera (y de otros alelos en los genes *VRN-1*) en el sur. Un experimento similar fue llevado a cabo con cuatro poblaciones biparentales de cebada, cultivadas hasta la F6 en cuatro localidades a lo largo de un gradiente norte-sur en Japón (Takahashi y Yasuda, 1971). Aunque en aquella época no se pudieron evaluar las frecuencias genéticas con marcadores moleculares, sí que se constató una selección disruptiva, a favor del hábito invernal y de un mayor requerimiento de vernalización en el norte, y de hábito primaveral en el sur. Curiosamente, en las dos localidades más centrales geográficamente, las poblaciones mantuvieron una mayor variación fenotípica con respecto al tiempo a floración y requerimiento de vernalización que en las dos localidades más extremas. Este hecho sugiere la acción de una selección balanceada (a favor del mantenimiento del polimorfismo de los genes responsables de los fenotipos), posiblemente debido a la alternancia de condiciones ambientales contrastantes.

7.1.5. El cultivo de la cebada en España

Los climas que existen en las zonas cerealeras de la Península van del Mediterráneo Continental al Mediterráneo Subtropical y Marítimo, según la clasificación de Papadakis. Los tipos de invierno que se dan en estos climas, según esa misma clasificación, engloban los denominados *Triticum*, *Avena*, *Citrus* y *Tropical*, por orden de más riguroso (o más días de helada) a más templado. Con esta gran variedad de climas y de temperaturas invernales, ¿cómo se ha realizado el cultivo de los cereales de invierno en España? Veremos cuál es la situación para la cebada, que puede extrapolarse también al trigo.

En ciertas zonas de España ha sido normal sembrar siguiendo las pautas clásicas para las variedades de invierno y primavera, descritas al principio del capítulo. Por ejemplo, en Soria se siembran las cebadas de primavera en febrero y marzo y, en Albacete las de invierno en noviembre. Sin embargo, en el sur de España se han sembrado todos los tipos de cebada normalmente entre noviembre y diciembre. Los resultados de López Fuster en el Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete han demostrado que muchas variedades de primavera pueden sembrarse en otoño, sin que sufran el más mínimo daño derivado de las heladas invernales o de las tardías

de primavera. Se consigue así incrementar sustancialmente los rendimientos en grano y la calidad del mismo (citado por Molina-Cano, 1989). Esta misma situación se da en amplias zonas del Valle del Ebro, pero es extraordinaria en Castilla y León, donde la siembra otoñal se debe realizar con variedades de invierno.

De modo que el cultivo típico de la cebada de primavera, sembrada en invierno, está restringido a zonas de la Meseta norte, de inviernos fríos y, sobre todo, de primaveras frescas que permiten un desarrollo final de la espiga en condiciones favorables al llenado del grano. En el resto de España la siembra del cereal se produce en otoño, en fechas variables según lo permita el tiempo de cada campaña. Aunque no es necesario sembrar a tempero, pues la siembra se puede realizar en seco, ésta puede verse retrasada por la sucesión de temporales de lluvias que mantengan la tierra demasiado húmeda durante semanas. Las variedades sembradas en otoño pueden ser de invierno o de primavera, dependiendo de la crudeza de las temperaturas invernales de cada región.

Vemos por tanto que España es una zona de transición para el cultivo de cereales en lo que respecta a la adaptación a la temperatura. En nuestro país coinciden climas parecidos a los existentes en las zonas originarias de la cebada y el trigo en Oriente Medio, con otros más parecidos a los centroeuropes. Esto ha provocado que, además de las variedades típicas de invierno y primavera, en nuestro país se cultiven variedades denominadas facultativas, que presentan unas características intermedias. Estas variedades pueden tener, por ejemplo, una necesidad de vernalización reducida y/o una sensibilidad al fotoperiodo no dependiente de la satisfacción del requerimiento de vernalización.

Una serie de ensayos llevada a cabo en el marco del programa nacional de mejora de cebada junto con otros colaboradores (como el ITA de Navarra), empleó un conjunto de referencia de genotipos de cebada como instrumento de diagnóstico para describir las posibles adaptaciones agronómicas de los distintos tipos de variedades (Igartua y col, 2001). Este conjunto de 32 variedades y líneas de mejora incluía genotipos de invierno, primavera y facultativos. Todos ellos habían demostrado buenas condiciones agronómicas en condiciones españolas, aunque sus procedencias eran diversas, incluyendo genotipos de Europa, España y del Este del Mediterráneo. Se evaluaron durante varios años en siembras de otoño en zonas de la mitad norte de España (Lérida, Navarra, Valladolid y Zaragoza), y uno de los resultados más significativos se recoge en la Figura 1. En ella se representan los dos primeros ejes de un análisis AMMI para el rendimiento. Este análisis explica la interacción *genotipo por ambiente* del rendimiento gracias a un análisis de componentes principales sobre la variación no explicada por los factores principales (*genotipo* y *ambiente*). Los dos primeros componentes representados en la Figura 1 explican un 45% de esta variación, y conforman una situación en la que el principal contraste se produce entre los ensayos de Valladolid y los de Lérida (los ensayos aparecen resaltados en negro, con un código de una letra que indica la provincia y dos dígitos que indican el año de cosecha). Este contraste coincide con el de las temperaturas de las localidades, resumidas en el pequeño histograma insertado en la Figura 1. Lérida fue la más cálida, especialmente en invierno, y Valladolid la más fría. El hecho de que las variedades de invierno se sitúen más próximas a los ensayos de Valladolid, y las de primavera a los de Lérida (implicando mejor comportamiento relativo en estas últimas), sugiere también que este patrón de adaptación sigue un gradiente de temperatura invernal. Las variedades facultativas quedaron en posiciones intermedias, pero algo más cercanas a las de primavera.

Los ensayos de Navarra y Zaragoza quedaron en una posición intermedia con respecto al definido por Valladolid y Lérida. Este contraste guarda ciertas similitudes con la distribución de las dos poblaciones principales de cebadas autóctonas españolas, descrito anteriormente. De nuevo se revelan dos patrones de adaptación aparentemente ligados al clima, especialmente a la temperatura invernal.

Los dos únicos genotipos españoles del conjunto de las 32, Albacete y H206, aparecen designadas en el gráfico, y mostraron un comportamiento agronómico claramente diferenciado del resto de genotipos. Esta observación se vió refrendada por la evaluación agronómica de una colección amplia de cebadas autóctonas españolas. Esta colección, denominada la colección nuclear española de cebada, está constituida por 159 cebadas autóctonas y 16 variedades. Cuando se sembró en ensayos durante varios años y localidades, mostró características agronómicas singulares con respecto a las variedades europeas de invierno y primavera sembradas en esos mismos ensayos. La más destacable fue un mayor potencial de producción de las cebadas autóctonas que las variedades modernas, en condiciones de estrés hídrico (Yahiaoui, 2006).

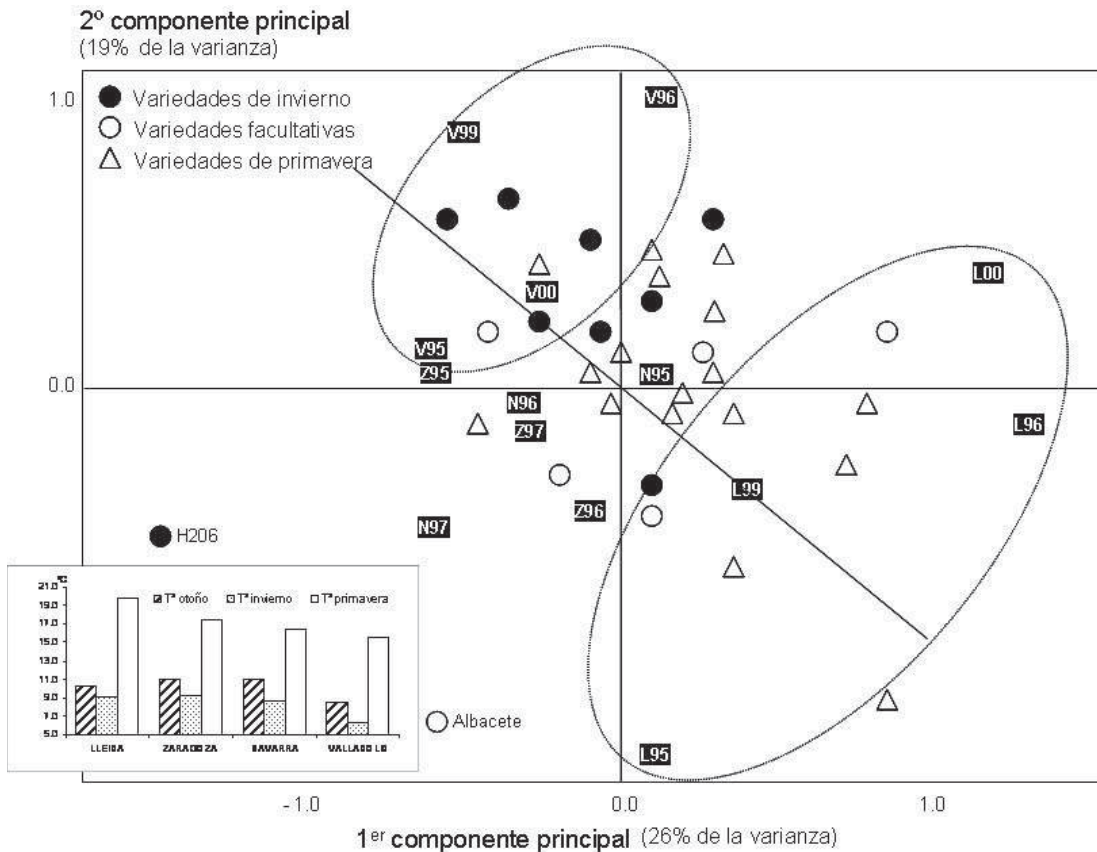


Figura 7.1. Representación de los dos primeros componentes principales del análisis AMMI del rendimiento correspondiente a una serie de ensayos realizada con 32 genotipos de cebada a lo largo de varios años en localidades del norte de España. El histograma insertado representa las temperaturas medias estacionales medidas en las localidades donde se realizaron los ensayos.

7.1.6. La fenología y el rendimiento en la mejora de la cebada

En principio, la sensibilidad al fotoperiodo y el requerimiento de vernalización no tendrían por qué tener un efecto directo sobre el rendimiento. Es posible alcanzar rendimientos potenciales elevados con diversas combinaciones de alelos de los genes implicados en el control de esos procesos. Por ejemplo, Kirby y Appleyard (1980) no encontraron diferencias significativas de rendimiento asociadas a la sensibilidad al fotoperiodo en cebadas de primavera evaluadas en condiciones controladas. Sin embargo, en un estudio más reciente, Karsai et al. (1999) demostraron que los dos QTL que más afectan a la floración en la población Dicktoo x Morex (que luego demostraron ser *Ppd-H1* y *Vrn-H1*, que describiremos más adelante) muestran también un efecto detectable sobre varios caracteres agronómicos, incluyendo los componentes del rendimiento. Así que existen evidencias experimentales contradictorias sobre este punto.

Pese a que pudiera existir una contribución directa de los caracteres fenológicos al rendimiento de los cereales, su principal papel estriba en la influencia sobre la interacción genotipo por ambiente (GxE) del rendimiento, que es la expresión genotípica diferencial en función de los distintos ambientes. La interacción GxE aparece regularmente en los estudios sobre el rendimiento de los cereales de invierno en condiciones mediterráneas. Esta interacción dificulta sobremanera la identificación de los mejores genotipos en los programas de mejora. Además, su tipo y magnitud condiciona los objetivos de la mejora (adaptación amplia o específica) y la elección de las localidades de selección. Esta situación se ha trasladado igualmente a la detección de QTLs para el rendimiento, que suelen ser escasamente repetibles entre ensayos. Por este motivo, aunque se han detectado numerosos QTLs de rendimiento en un número importante de poblaciones, éstos han tenido un impacto limitado en la mejora asistida por marcadores (Thomas, 2003). Aunque hay otros motivos que contribuyen a explicar este relativo fracaso, como la limitada transferibilidad de QTLs entre trasfondos genéticos y los efectos modestos de muchos QTL.

En aquellas zonas donde los recursos hídricos son escasos, como en las regiones con clima mediterráneo, el factor principal de adaptación de los cultivos es el ajuste fenológico. En el caso de la cebada, la adecuación de la fecha de floración a las épocas del ciclo de cultivo en las que los recursos hídricos y ambientales son más favorables, determina el rendimiento final (van Oosterom y Acevedo, 1992). La variación que se produce en la fecha de floración en respuesta a las condiciones ambientales, se debe a la suma de los efectos directos e interacciones de los genes que regulan el momento de cambio del desarrollo vegetativo al reproductivo. Este hito determina a su vez la duración de las fases de desarrollo de la planta e, indirectamente, la producción de materia seca, el número de las estructuras que contribuyen al rendimiento final (hijuelos, espigas y granos), y la manera en que la materia seca es distribuida por la planta (Boyd 1996). Por ejemplo, las variedades precoces normalmente se comportan mejor en zonas de bajo rendimiento, debido a la menor disponibilidad de agua al final del ciclo (van Oosterom et al., 1993; Jackson et al., 1994). Otro ejemplo, las variedades que necesitan de mucha vernalización pueden sufrir notables retrasos en la floración en caso de falta de frío invernal, por lo que sufrirán un estrés hídrico terminal de mayor intensidad que otras variedades que necesiten de poca o ninguna vernalización.

Cuando se considera una serie de ensayos llevados a cabo a lo largo de una serie de localidades y años, como es habitual en los programas de mejora, es muy probable que se hayan dado condiciones ambientales contrastantes que favorezcan un tipo u otro de variedades, apareciendo casi inexorablemente la interacción GxE. El resultado es que la producción de variedades con buena adaptabilidad a zonas con variaciones climáticas anuales, como es el caso de los países de Europa Central o Meridional, se convierte en una tarea de dificultad notable (Worland et al., 1998).

En las condiciones de clima mediterráneo que se dan en España, la parte final del ciclo de cultivo suele ser seca y cálida. En consecuencia, es importante evitar floraciones tardías, que ocurrirían en épocas en las que el estrés hídrico produce una considerable disminución del rendimiento. Sin embargo, una excesiva precocidad en estas condiciones, impide al cultivo aprovechar al máximo las lluvias de principios de primavera y puede exponerlo a heladas tardías en un momento crucial del crecimiento. De este modo, existe un margen restringido de fechas de espigado en el que el cultivo puede expresar al máximo su potencial de rendimiento. Ese margen, probablemente distinto según zonas de cultivo, aún está por definir con precisión.

Los resultados obtenidos por Cuesta-Marcos y col (2008c) para una población de líneas haploides duplicadas de cebada en condiciones españolas, pusieron de manifiesto la estrecha interacción entre los genes que controlan la fecha de floración, las condiciones ambientales, y el rendimiento. Por un lado, los dos QTLs con un efecto mayor sobre la fecha de espigado mostraron a su vez un efecto QTL por ambiente para el rendimiento muy notable. Lo que ocurrió es que, dependiendo de la intensidad del estrés hídrico final, los genotipos más favorecidos podían ser los más tempranos o los más tardíos, por lo que el rendimiento aparecía afectado por la precocidad de modo variable según los ambientes. Por otra parte, al subdividir la población en tres clases homogéneas con respecto a la fecha de floración, y repetir la búsqueda de QTL en esas subpoblaciones, aparecieron nuevos QTLs para el rendimiento, no detectados en la población completa. El motivo fue que estos QTL estaban ocultos por la relación cambiante entre la fecha de floración y el rendimiento a lo largo de todo el rango de variación de floraciones de esa población de cebada.

7.2. FENOLOGÍA: FISIOLOGÍA, GENÉTICA Y MEJORA

El manejo eficiente de los caracteres fenológicos en programas de mejora requiere conocer su control genético. La heredabilidad del carácter “fecha de floración” es bastante alta, por lo que es relativamente fácil de manipular por selección. Sin embargo, el control genético es bastante complejo, pues existen cinco o seis genes mayores involucrados, más un número elevado de QTL menores. Además, existen interacciones epistáticas entre algunos de los genes principales, por lo que son bastante habituales las segregaciones transgresivas y la variabilidad críptica (escondida). Por ejemplo, es posible obtener un genotipo con requerimiento de vernalización en un cruce de dos parentales que no lo posean (Szucs y col, 2007). Por tanto, la manipulación de los caracteres fenológicos en programas de mejora se facilitará en gran medida si se conocieran sus características fisiológicas, la localización de los genes responsables y sus efectos.

7.2.1. Factores que determinan la fecha de floración

Los primeros modelos propuestos para explicar las variaciones en la fecha de floración de la cebada eran modelos mendelianos simples. Nilan (1964) cita varios estudios que proponían segregaciones 3:1 (tanto a favor de floraciones tempranas como tardías), y otros que proponían modelos basados en dos genes, siendo la floración tardía dominante sobre la temprana. Además, se sabía que este carácter estaba muy influenciado por factores ambientales. Desde la década de los años 30 del siglo XIX, se sabía que la exposición a bajas temperaturas podía inducir la floración en las plantas (estudios citados en Salisbury, 1963). Por otro lado, Garner y Allard (1920) descubrieron que la floración en muchas plantas estaba condicionada por el fotoperíodo.

Estudios posteriores pusieron en evidencia que la variación en la fecha de floración, entre diferentes genotipos y entre individuos de poblaciones segregantes, era debida a factores como la fecha de siembra, la localización de los experimentos o los genotipos elegidos como parentales de las poblaciones segregantes. Esto llevó a Bell (1939) a proponer que la época de floración en la cebada suponía una relación compleja entre fisiología, genotipo y ambiente. Ya en 1958, Johnson y Taylor expresaron claramente que la fecha de floración es un carácter cuantitativo determinado por la interacción del genotipo y el ambiente, y en el que el fotoperiodo y la vernalización tenían una influencia directa sobre las tasas de desarrollo.

Posteriormente, el uso de técnicas moleculares de mapeo y análisis de aneuploides, permitió identificar numerosos genes, o regiones cromosómicas, asociados con el control de la época de floración en los cereales de invierno, al menos 20 en trigo y 16 en cebada (Laurie et al., 1995; Worland, 1996; Hayes et al., 1997). El estudio de la floración, suele ir acompañado del estudio de las diferentes fases de desarrollo (estados fenológicos), intentando explicar el efecto del fotoperiodo y la temperatura sobre la duración de las diferentes fases fenológicas y, por tanto, su relación con el adelanto o retraso de la floración (García del Moral et al., 2002), así como el efecto de la interacción genotipo por ambiente y su variación en los diferentes estados fenológicos. Existen diversas clasificaciones de los diferentes estados fenológicos, bien por la apariencia externa de la planta (Large, 1954; Haun, 1973), o bien describiendo los cambios morfológicos que se producen en el meristemo apical (Kirby y Appleyard, 1986). Una de las más prácticas desde el punto de vista agronómico es la clasificación de García del Moral et al. (2002), quienes dividieron el desarrollo de la planta en tres estados o fases fenológicas: vegetativa (desde germinación hasta inicio de la floración), reproductiva (hasta antesis o espigado) y fase de llenado del grano (hasta madurez del grano).

En resumen, se puede afirmar que los principales componentes que influyen en el desarrollo son el fotoperiodo y la temperatura, tanto la temperatura *per se* como la baja temperatura asociada al requerimiento de vernalización. Mientras que el fotoperiodo y la vernalización afectan solamente a la tasa de desarrollo en determinadas fases fenológicas, la temperatura *per se* afecta a todas las fases y no se ha descrito ningún cultivar cuya tasa de desarrollo sea insensible a este factor (García del Moral et al., 2002).

¿Cómo afectan estas condiciones ambientales al desarrollo y la floración de los cereales, especialmente en la cebada, y cuál es el control genético de las respuestas genotípicas a las mismas?

7.2.2. Fotoperiodo

La respuesta de las plantas a los cambios en el número de horas de luz es uno de los principales factores determinantes de la duración de las diferentes fases de desarrollo y, por tanto, de adaptación al ambiente (Evans, 1993).

Los cereales de grano pequeño son, en general, plantas de día largo, es decir, florecen cuando el número de horas de luz de los días es creciente (Thomas y Vince-Prue, 1997). En el caso de la cebada, esta generalización está limitada por el hecho de que existe un umbral inferior de fotoperiodo, por debajo del cual la floración no ocurre de ninguna manera (8-10 horas en función de los genotipos), y un umbral superior por encima del cual un incremento en el fotoperiodo no supone un cambio en la tasa de desarrollo (13-18 horas en función de los genotipos, según Roberts et al., 1988). Entre ambos límites, la respuesta de los genotipos de cebada al fotoperiodo creciente permite su clasificación en diferentes grupos, tal como propusieron Boyd et al. (2003):

- genotipos que no responden, o que lo hacen mínimamente, al incremento en el fotoperiodo. Gallagher et al. (1991) se refieren a estos genotipos como insensibles al fotoperiodo, *Photoperiod insensitive* o PI, en contraposición con aquellos que sí responden (*Photoperiod sensitive* o PS);
- genotipos cuyo grado de sensibilidad al fotoperiodo varía a lo largo del desarrollo. Estos genotipos sensibles al fotoperiodo son, sin embargo, insensibles durante el periodo de tiempo que sigue inmediatamente a la germinación, denominado periodo preinductivo o periodo básico vegetativo (BVP, Major, 1980), y durante otro periodo que precede a la antesis, denominado postinductivo. El intervalo entre ambos periodos de insensibilidad se denomina periodo inductivo o periodo de sensibilidad al fotoperiodo (PSP, Major, 1980) y en él se produce una relación lineal entre el incremento en el fotoperiodo y el adelanto en el espigado, siendo la tasa de crecimiento variable en función de los genotipos y la temperatura (Ellis et al., 1988).

La respuesta de las plantas a la diferente duración de las fases de luz y oscuridad se debe a la presencia de pigmentos fotorreversibles denominados fitocromos. La forma inactiva del fitocromo, *Pr*, al absorber luz roja, se transforma en otra forma, *Pfr*, fisiológicamente activa pero inestable (Smith y Whitelam, 1990), capaz de absorber luz infrarroja. Este proceso se revierte en condiciones de oscuridad. La inducción de la floración en la cebada está promovida por la absorción de luz infrarroja (Jabben y Deitzer, 1979), con lo que el predominio de la forma *Pfr* sobre la *Pr*, que se da en condiciones de día largo, activa el proceso de inducción de la floración y en el caso contrario lo inactiva. El mecanismo de inducción parece ser debido a la acumulación de estímulos de floración en las hojas, que se translocan a los ápices de los tallos, desencadenando el proceso reproductivo. Hay evidencias del papel de las giberelinas en estos estímulos (Jackson y Thomas, 1997).

7.2.3. Control genético de la respuesta al fotoperiodo

Los estudios fundamentales llevados a cabo por Laurie et al. (1994, 1995) pusieron de manifiesto la presencia de dos QTL de gran efecto, que denotaban la existencia de dos genes mayores relacionados con la respuesta al fotoperiodo en la cebada, en un cruzamiento de una variedad de invierno por otra de primavera (Igri x Triumph). Estos genes, aún no identificados en ese momento, fueron denominados *Ppd-H1* y *Ppd-H2*, siguiendo la nomenclatura utilizada para el trigo (Law et al., 1993).

Ppd-H1 se sitúa en el brazo corto del cromosoma 2H, a 1 cM del marcador MWG858, y confiere sensibilidad al fotoperiodo largo, de tal manera que el alelo sensible provoca el adelanto de la floración a medida que el fotoperiodo crece, mientras que la variación no es significativa en condiciones de fotoperiodo corto. El gen *Ppd-H2*, situado en el brazo largo del cromosoma 1H, tiene un efecto significativo en la variación de la floración solamente en condiciones de fotoperiodo corto. No existe evidencia de interacciones epistáticas entre ambos genes (Laurie et al., 1995).

Actualmente se han propuesto ya candidatos para ambos genes. Turner et al. (2005) identificaron *Ppd-H1* mediante clonaje posicional; se trata de *HvPRR7*, un gen *pseudo-response regulator 7*, que está bajo control del ritmo circadiano. Se dispone de un marcador STS diagnóstico del gen (un SNP al digerir con *BstUI*). Recientemente, se ha identificado *HvFT3* como candidato para el gen *Ppd-H2* (Faure et al., 2007).

Otros genes que causan diferencias en la fecha de floración en condiciones de fotoperiodo corto son *Eam6* (sinónimo *eps2s*, Franckowiak, 2007), *eam7* (sin. *ea₇* o *e_c*), en el brazo corto del cromosoma 6H (Stracke y Börner, 1998), *eam8* (sin. *ea_k*, *ea-a*, o *mat-a*), en el brazo largo del cromosoma 1H (Franckowiak, 1997), *eam10* (sin. *ea_{sp}*) en el brazo largo del cromosoma 3H (Börner et al., 2002), y *eam9* (sin. *ea_c*) en el brazo largo del cromosoma 4H (Franckowiak, 1997; Lundqvist et al., 1997).

7.2.4. Vernalización

Algunos genotipos de cebada precisan de un periodo de exposición a bajas temperaturas para inducir la floración. La diversidad de respuestas genotípicas es grande, desde aquellos en los que la acumulación de horas de frío adelanta la floración en mayor o menor medida, hasta aquellos en los que la vernalización es un requisito indispensable (Roberts et al., 1988). Existen, por otra parte, genotipos puros de primavera en los que el requerimiento de vernalización es nulo.

Salisbury (1963) propuso que la exposición a bajas temperaturas provocaba en la planta la síntesis de una sustancia, a la que denominó *vernalina*, que hacía a las plantas sensibles a los efectos del fotoperiodo. Hoy en día, sin embargo, aún no se ha demostrado la existencia fisiológica de la misma.

Se han propuesto varios modelos con intervención de interacción epistática para explicar el mecanismo de respuesta a la vernalización en *Triticum monococcum* (Dubcovsky et al., 1998; Tranquilli y Dubcovsky, 2000). Yan et al. (2004) propusieron un modelo para el trigo diploide según el cual, en aquellos genotipos que presentan un requerimiento de vernalización, existe un represor de la floración que deja de actuar cuando se ha acumulado un número suficiente de horas de frío, permitiendo el tránsito de la fase vegetativa a la reproductiva.

A diferencia de lo que ocurre con los efectos de la temperatura *per se*, la vernalización no afecta directamente a la tasa de iniciación de las hojas (o lo hace ligeramente), sino al número final de hojas. Por esta razón, a menudo se utiliza el número de hojas como un indicador de la sensibilidad a la vernalización, siempre que se hayan satisfecho los otros requisitos necesarios (Kirby et al., 1985).

Los rangos de temperatura entre los que existe efecto de vernalización en la cebada varían, según los autores, desde -5 hasta 16°C, con un efecto máximo entre 0 y 8°C (Roberts et al., 1988), o desde 3 hasta 12°C, con un efecto óptimo en 7°C (Trione y Metzger, 1970).

A diferencia de lo que ocurre con el fotoperiodo, aquí no se ha propuesto una translocación de estímulos desde las hojas hasta los ápices de los tallos, sino que las células en fase de división mitótica en el meristemo apical son las únicas capaces de percibir la influencia de la vernalización (Burn et al., 1994).

También es de gran relevancia el requerimiento de vernalización en los procesos de adaptación en la cebada y otros miembros de la familia *Triticeae*, por estar asociado a la resistencia al frío (Skinner et al., 2006).

7.2.5. Control genético del requerimiento de vernalización

El modelo clásico de control genético de las necesidades, formulado por Takahashi y Yasuda (1971) se basaba en 3 loci: *Sh/sh*, *Sh₂/sh₂* y *Sh₃/sh₃* (según la nomenclatura de los autores), con localización aparente en los cromosomas 4HL, 5HL, y 1HL, respectivamente. Estos genes presentan relaciones epistáticas entre sí. Sólo la combinación alélica *ShShsh₂sh₂sh₃sh₃* confiere hábito de crecimiento invernal. Todas las demás producen genotipos con hábito primaveral. Tanto *Sh₂* como *Sh₃* son epistáticos sobre el alelo de invierno dominante *Sh*, y el alelo recesivo de primavera *shsh* es epistático sobre *sh₂* y *sh₃* (Yasuda, 1981).

Takahashi y Yasuda (1971) estudiaron una gran cantidad de genotipos de cebada. Estos autores encontraron una gradación de requisitos de vernalización, aparentemente relacionada con la existencia de una serie alélica en el locus *Sh₂*, donde varios alelos dominantes condicionan variaciones en la respuesta a las bajas temperaturas en aquellos genotipos que no son puramente de invierno. Tanto el alelo recesivo *sh₁* como el dominante *Sh₃*, ambos alelos de primavera, son epistáticos sobre el alelo dominante *Sh₂* y son sólo funcionales en presencia de uno u otro de los alelos dominantes de *Sh₂*, lo cual contribuye a mayores posibilidades de variación fenotípica (Boyd et al., 2003).

La clonación de los genes candidatos *Vrn1A^m* y *Vrn2A^m*, que regulan el requerimiento de vernalización en trigo diploide (Yan et al., 2003, 2004) ha servido para un mejor entendimiento del proceso en los cereales. También ha servido para la clonación de los genes correspondientes en la cebada (*Vrn-H2*, sinónimo de *Sh₁* y *Vrn-H1*, sinónimo de *Sh₂*), basándose en la ortología entre trigo y cebada (von Zitzewitz et al., 2005).

Las variantes alélicas en el locus *Sh₃* (ahora también denominado *Vrn-H3*) habían sido descritas solamente en cebadas de latitudes extremadamente altas o bajas (Takahashi y Yasuda, 1971), con lo que en las variedades comúnmente utilizadas en Europa solamente se esperaba variación en los loci *Sh₁* y *Sh₂*. Recientemente, se ha identificado el gen *Vrn-H3*, que corresponde a un homólogo del gen *FT* de *Arabidopsis*, *HvFT1* (Yan et al., 2006; Faure et al., 2007). Este gen se ha localizado en el brazo corto del cromosoma 7H, y no en el 1H, como predecían los estudios clásicos de Takahashi.

Según el modelo molecular que explica la interacción epistática entre *Vrn2* y *Vrn1* en la familia *Triticeae*, propuesto por Yan et al. (2004), *Vrn2* codifica un represor dominante de la floración (gen candidato *ZCCT1*) que inhibe la expresión del gen de floración *Vrn1* (gen candidato *TmAP1*). La vernalización regula la expresión de *Vrn2* en la medida en que la disminuye, permitiendo la expresión de *vrn1* en los genotipos de invierno, mientras que no existe ningún requisito de vernalización en el caso de que no se produzca el represor (genotipo *vrn2*), independientemente del alelo presente en *Vrn1*. De la misma manera, no necesitan vernalización aquellos genotipos que producen el represor (alelo dominante *Vrn2*) pero carecen de un lugar de unión del represor (alelo dominante *Vrn1*).

Los genes candidatos ortólogos en cebada son, según von Zitzewitz et al. (2005), el cluster de genes *ZCCT-H* (correspondientes a *ZCCT1*) y *HvBM5* (correspondiente a *TmAP1*). Ambos son factores de transcripción, *HvBM5/Vrn-H1* de tipo "MADS box" y *HvZCCT/Vrn-H2* contiene un "zinc-finger" y un dominio CCT.

La variación alélica en *Vrn-H1* parece que se debe a diferencias en el primer intrón del gen (Fu et al., 2005; von Zitzewitz et al., 2005; Cockram et al., 2007b), aunque también se han propuesto variaciones debidas a diferencias en el promotor (Yan et al., 2003; Beales et al., 2005). Respecto a la variación alélica en *Vrn-H2*, Karsai et al. (2005) comprobaron que se debía a presencia/ausencia de los genes *ZCCT-H* mientras que Dubcovsky et al. (2005) propusieron que es el gen *ZCCT-Ha* el principal responsable. Evidencias posteriores parecen indicar que el responsable de la variación alélica en *Vrn-H2* podría ser *ZCCT-Hb* (Trevaskis et al., 2006, Szucs et al., 2007).

7.2.6. Interacción entre la vernalización y el fotoperiodo

La vernalización y la respuesta al fotoperiodo no son fenómenos independientes. La exposición a fotoperiodos de corta duración en las primeras etapas de crecimiento, en algunos genotipos que responden al incremento del fotoperiodo, puede tener un efecto similar a la exposición a bajas temperaturas. Evans (1987) propuso el nombre de “vernalización de día corto” para este fenómeno. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que este fenómeno es sólo aparente, y que se puede explicar por la suma del efecto de sensibilidad al fotoperiodo corto aportado por el alelo sensible en *Ppd-H2* al efecto epistático de los alelos de invierno en *Vrn-H1* y *Vrn-H2* (Cuesta-Marcos y col, 2008b).

El fenómeno de vernalización por bajas temperaturas tiene efecto en la reducción de la duración de la fase pre-inductiva (aquella que sigue a la nascencia, en la que la planta es insensible al incremento del fotoperiodo) y en la reducción del número de hojas del tallo principal (Roberts et al., 1988).

Parece probado que la expresión del gen *Vrn-H2* es reprimida por el fotoperiodo corto (Trevaskis y col, 2006). Aún no está claro dónde se produce la acción represora de *Vrn-H2*. Una hipótesis es que esta acción se efectúa sobre *Vrn-H3* (Yan y col, 2004) y otra defiende que es sobre *Vrn-H1* (por ejemplo, en Trevaskis y col, 2006). En cualquier caso, es un gen que interviene en las dos rutas, la de la vernalización y la del fotoperiodo, poniéndose de manifiesto los contactos entre ambas.

Una exposición moderada a bajas temperaturas tiene además el efecto de incrementar la resistencia al frío, necesaria en aquellas zonas donde se producen temperaturas por debajo de 0°C. La máxima tolerancia a las bajas temperaturas se consigue en la fase vegetativa del desarrollo (Fowler et al., 2001). Los genotipos de invierno suelen ser más resistentes al frío; sin embargo, este proceso de inducción de la resistencia se produce de la misma manera en los genotipos de primavera. Se ha comprobado, en un gran número de genotipos de invierno de cebada, que los fenotipos de respuesta al fotoperiodo, a la vernalización y la resistencia a las bajas temperaturas se encuentran en todas las combinaciones posibles (Karsai et al., 2001). El hecho de que estos tres fenómenos estén interrelacionados es más probable que sea atribuible a efectos de ligamiento que a pleiotropía (Francia et al., 2004). La identificación de los genes *CBF*, involucrados en la tolerancia al frío, en la proximidad de *Vrn-H1* apoya esta observación (Skinner et al., 2006).

7.2.7. Temperatura

De forma general, y como característica común a todos los procesos biológicos, el desarrollo del trigo y de la cebada y, por tanto, la fecha de floración, se ve adelantado según una relación lineal con el aumento en la temperatura, hasta un valor óptimo por encima del cual no se produce un adelanto mayor, o incluso se retrasa (Roberts et al., 1988). Esta relación se cumple en todos los genotipos y todas las fases de desarrollo de la cebada, si bien el grado de sensibilidad a la temperatura varía en función de los genotipos. Vamos a describir esta relación para la cebada, si bien es similar para el trigo.

Tradicionalmente, se ha empleado el concepto de integral térmica (grados-día acumulados), basado en la observación de que, en muchas circunstancias, se cumple esta relación lineal:

$$\frac{1}{f} = a + bT$$

Donde f es el tiempo entre siembra y floración (días), y $1/f$ es la tasa de desarrollo. T es la temperatura media diurna ($^{\circ}\text{C}$), a es la temperatura base por debajo de la cual no se produce avance en el desarrollo y $1/b$ es la integral térmica, siendo estos dos valores a y b constantes específicas de cada genotipo. Solamente si se cumple esta ecuación se puede afirmar que la floración ocurre cuando la integral térmica necesaria, diferente para cada genotipo, ha sido acumulada. Según Slafer y Rawson (1994), esta ecuación puede aplicarse independientemente a cada fase de desarrollo, y se puede obtener para cada genotipo, para un determinado fotoperiodo y bajo unas determinadas condiciones de vernalización. La temperatura, además de influir en la tasa de desarrollo y, por tanto, en la duración de las diferentes fases, también afecta a la tasa de iniciación de hojas y espiguillas y al filocrono o tasa de aparición de las hojas (Klepper et al., 1982).

Sin embargo, cuando se producen cambios en la duración del fotoperiodo, como ocurre en condiciones de campo, la tasa de desarrollo varía en función de la fenología, con lo que el concepto de integral térmica no es totalmente aplicable (Roberts et al., 1988). Para solventar esta dificultad, Ellis et al. (1988) introdujeron el concepto de integral fototérmica:

$$\frac{1}{f} = a + bT + cP$$

Donde P es el fotoperiodo en horas día⁻¹, T es la temperatura media diurna ($^{\circ}\text{C}$) y a , b y c son constantes específicas de cada genotipo. Los límites de esta relación se encuentran entre una temperatura base mínima y una óptima, y entre unos valores de fotoperiodo mínimos (que impiden la floración) y máximos, cuya superación no supone un cambio en la respuesta.

7.2.8. Control genético de la precocidad intrínseca

Cuando la influencia de la vernalización y el fotoperiodo sobre la fecha de floración es eliminada experimentalmente, satisfaciendo las necesidades de los diferentes genotipos, se observa que aún existe variación en las mismas. Los genes implicados en esta variación, cuyos efectos no son directamente atribuibles a la vernalización o fotoperiodo, se han denominado en general *earliness per se* o genes de precocidad intrínseca (*eps*). Laurie et al. (1995) identificaron 8 loci *eps*: *eps2S* en el brazo corto del cromosoma 2H, próximo al centrómero; *eps3L* en el brazo largo del cromosoma 3H; *eps4L* en el brazo largo del cromosoma 4H; *eps5L* en el brazo largo del cromosoma 5H; *eps6L.1* y *eps6L.2*, ambos en el brazo largo del cromosoma 6H; *eps7S* en el brazo corto del cromosoma 7H y *eps7L* en el brazo largo del cromosoma 7H. Además, se han identificado otros loci causantes de precocidad denominados *Early maturity* QTL o *Eam* (Franckowiak et al., 2003; Franckowiak 2004), algunos de los cuales son sinónimos de los *eps*, aunque otros lo son de los genes de respuesta al fotoperiodo.

Las causas de la variación en la fecha de floración por causas distintas al fotoperiodo o la vernalización han sido objeto de diferentes estudios. Roberts et al. (1988) propusieron la relación de esta variación con la duración del periodo pre-inductivo que sigue a la nascencia, en el cual se produce crecimiento y aumento del número de hojas pero no se produce la inducción de la floración. Sin embargo, la duración de este periodo varía muy poco entre genotipos, y su correlación con el número de hojas del tallo principal es baja, con lo que las diferencias entre genotipos serían debidas a diferencias en la tasa de desarrollo (Flood y Halloran, 1984), que estaría asociada a diferencias genéticas en la respuesta a la temperatura, lo cual fue confirmado por Slafer y Rawson (1995). Además, estos autores habían propuesto que existe una variación en la precocidad, independientemente de la precocidad atribuida a variaciones en el fotoperiodo o la vernalización, y que estaba correlacionada con el número de hojas del tallo principal (Slafer y Rawson, 1994). La duración del efecto provocado por este carácter no era constante ni en días ni en integral térmica, sino que las diferencias entre genotipos eran menores a bajas temperaturas, aumentando hasta los 19°C sin cambiar el orden, pudiendo éste revertirse a temperaturas superiores. Estos autores concluyeron que las interacciones genotipo por temperatura actuaban en las diferentes fases de desarrollo fenológico afectando a la tasa de desarrollo y, por tanto, a la fecha de floración.

Hay y Ellis (1998), a modo de consenso, propusieron que la variación en el carácter de precocidad intrínseca era debida a una combinación del número de hojas iniciadas en el tallo principal (directamente relacionado con la duración del periodo pre-inductivo propuesto por Roberts et al., 1988) y diferencias en la tasa de desarrollo, la cual era un carácter intrínseco de los genotipos controlado por genes reguladores de la tasa de desarrollo, que a su vez estaban influenciados por la temperatura.

Otros autores parecen haber encontrado evidencias de que la regulación de los genes implicados en la precocidad intrínseca puede ser también diferente en condiciones de fotoperiodo corto o largo (Kato et al., 2002), con lo que el control genético de la respuesta a todos los factores ambientales que influyen en la fecha de floración aparecerían así interrelacionados.

7.2.9. Otros efectos

Existe otra serie de factores, de menor efecto en comparación con los descritos, que afectan también a la fecha de espigado. Entre ellos se pueden citar el estrés hídrico en el suelo (Aspinall, 1961), los niveles de nutrientes (Halse y Weir, 1970), la fotosíntesis y la disponibilidad de asimilados (Dale y Wilson, 1979), y la radiación global (Thompson y Mathews, 1981).

7.2.10. Control genético de la fecha de floración en condiciones españolas

Después de estos planteamientos y estudios teóricos, lo que los mejoradores necesitan para hacer su trabajo de modo más eficiente es conocer cuáles de todos estos factores fisiológicos, genes y QTL son los responsables de la variación en la fecha de floración en condiciones españolas. Nos planteamos buscar estos QTL de dos maneras distintas. Por un lado con una población de mapeo, compuesta por 120 líneas de haploides duplicados (DHs) del cruzamiento Beka x Mogador. Este cruzamiento de un genotipo de primavera por otro de invierno produjo una extraordinaria variación en la fechas de espigado (Cuesta-Marcos y col, 2008b). Ambas variedades han sido ampliamente cultivadas en España, por lo que esperamos que el cruzamiento estuviera bien adaptado a nuestras condiciones.

Pese a su utilidad, ese estudio presentaba el inconveniente habitual de los trabajos con un material de base genética estrecha. Para superar esta limitación, y conseguir resultados extrapolables al material que se emplea en el programa nacional de mejora de cebada, se realizó un estudio de validación de los principales QTL de fecha de espigado en un conjunto de germoplasma de amplia base genética. Este conjunto se componía de 17 pequeñas poblaciones de DHs de cebada en las que intervenían como parentales, habitualmente en más de una población, catorce variedades comúnmente utilizadas en el programa español de mejora de la cebada.

En cuanto a los genes de respuesta al fotoperiodo, tanto en la población Beka x Mogador como en el conjunto de pequeñas poblaciones de DHs, la región del gen *Ppd-H2* fue una de las principales responsables de la determinación de la fecha de espigado. En ambos casos, aquellas plantas que presentaron en esta región los alelos presentes en los cultivares de invierno (ausencia del gen *HvFT3*) fueron las más retrasadas. Esta región es además responsable de una considerable parte de la interacción genotipo por ambiente del rendimiento en la población Beka x Mogador.

Respecto al gen *Ppd-H1*, al no ser polimórfico en la población Beka x Mogador, su inclusión en el ensayo de validación en las poblaciones de DHs se debió a su importancia descrita en otros estudios (Laurie et al. 1994, 1995; Turner et al., 2005). Este gen resultó ser el más determinante para la fecha de espigado en condiciones de siembra invernal para este conjunto de materiales. Sin embargo, en las condiciones de siembra otoñal, que son las mayoritarias en los secanos del norte de España, este gen parece no tener un efecto destacable. Una posible explicación vendría dada por el hecho de que la mayor parte del desarrollo vegetativo del cultivo se produce bajo fotoperiodos inferiores a los que este gen necesita para que comience a expresarse su efecto, que son alrededor de 13 horas (Turner et al, 2005). En caso de siembras invernales y primaverales, éste sería uno de los genes principales a tener en cuenta. Además de tener un marcador diagnóstico dentro del propio gen, también existen una serie de marcadores en sus inmediaciones que podrían ser de gran ayuda en una estrategia de selección basada en marcadores flanqueantes.

En el estudio de Beka x Mogador, se puso de manifiesto el papel preponderante de un QTL en la región del gen *Eam6* en la determinación de la fecha de espigado en ensayos de campo sembrados en distintas fechas, y también bajo las diferentes condiciones de los ensayos de invernadero. Este efecto fue confirmado en las 17 poblaciones de DHs, por lo que se puede generalizar su papel como un gen mayor para la fecha de espigado en condiciones mediterráneas. El efecto en estas 17 poblaciones fue similar al detectado en Beka x Mogador y se demostró su independencia de *Ppd-H1* (se sitúan en el mismo cromosoma), en parte porque el desequilibrio de ligamiento que puede impedir la individualización de los efectos causados por QTL que están próximos en poblaciones de cruzamientos simples, se deshace después de unos pocos centimorgan en el análisis conjunto de las 17 pequeñas poblaciones de DHs. Recientemente se ha identificado el gen *HvFT4* en esta región del cromosoma 2H (Faure et al., 2007), que se ha propuesto como candidato.

Los genes de vernalización apenas mostraron efecto sobre la fecha de floración en condiciones de siembra otoñal. Por el contrario, su efecto fue muy grande tanto en siembras de campo invernales como en ensayos en condiciones controladas en ausencia de vernalización.

Por último, otro QTL que mostró un efecto grande y consistente en los dos estudios se encontró en la región del gen *eam7*, en el cromosoma 6H. Finalmente se detectaron otros QTL de efecto menor, o detectados sólo en uno de los ensayos, algunos de los cuales fueron comunes entre los dos estudios. Su lista detallada se proporciona en los trabajos citados (Cuesta-Marcos, 2008 a y b).

Estos trabajos han permitido comprobar la precisión de una serie de marcadores diagnóstico de diversos genes para predecir el comportamiento fenotípico. En otros casos, permitieron definir marcadores flanqueantes también utilizables en mejora para el seguimiento de segmentos cromosómicos concretos.

En la actualidad, los mejoradores de trigo y cebada tienen a su disposición marcadores moleculares perfectos para todos los genes mayores que controlan el requerimiento de vernalización y la respuesta al fotoperiodo. Con estos útiles, es posible predecir la segregación que existirá en una población antes de realizar el cruzamiento y, hasta cierto punto, el rango de valores que se puede esperar para el carácter fecha de floración.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Educación y Ciencia la financiación de los estudios cuyos resultados se presentan en este trabajo, concretamente de los proyectos AGF95-1008, AGF98-0251, AGL2001-2289, AGL2004-05311 y AGL2007-63625.

REFERENCIAS

- Aspinall, D. (1961). The control of tillering in the barley plant. *Aust. J. Biol. Sci.* 14: 917-925.
- Beales, J., Laurie, D. and Devos, K.M. (2005). Allelic variation at the linked AP1 and PhyC loci in hexaploid wheat is associated but not perfectly correlated with vernalization response. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1099-1107.
- Bell, G.D.H. (1939). A study on the date of ear emergence in barley. *J. Agric. Sci.* 29: 175-228.
- Bernier, G., Kinet, J.M. and Sachs R.M. (1981). *The Physiology of Flowering*. Vol. I Chapt. 9. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL, USA.
- Boyd, W.J.R., Li, C.D., Grime, C.R., Cakir, M., Potipibool, S., Kaveeta, L., Men, S., Kamali, M.R.J., Barr, A.R., Moody, D.B., Lance, R.C.M., Logue, S.J., Raman, H. and Rea 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. *Aust. J. Agric. Res.* 54: 1277-1301.
- Burn, J., Dennis, L. and Peacock J. (1994). The mysteries of flowering. pp 26-31. In: *Today's Life Science* 6,. Thomson Publications Australia Vol. II. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL, USA.
- Caicedo, A.L., Stinchcombe, J.R., Olsen, K.M., Schmitt J. and Purugganan, M.D. (2004). Epistatic interaction between Arabidopsis FRI and FLC flowering time genes generates a latitudinal cline in a life history trait. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:15670-15675.
- Cockram, J., Jones, H., Leigh, F.J., O'Sullivan, D., Powell, W., Laurie, D.A. and Greenland, A.J. (2007a). Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable production. *J. Exp. Bot.* 58:1231-1244.
- Cockram, J., Chiapparino, E., Taylor, S.A., Stamati, K., Donini, P., Laurie, D.A. and O'Sullivan, D.M. (2007b). Haplotype analysis of vernalization loci in European barley germplasm reveals novel VRN-H1 alleles and a predominant winter VRN-H1/VRN-H2 multi-locus haplotype. *Theor. Appl. Genet.*, 115:993-1001.
- Columela, L.J.M. (ca. 50) *De Re Rustica (Doce Libros de Agricultura)*. Ed. Iberia, Barcelona, 1959. 2 vol.
- Cuesta-Marcos, A., Casas, A.M., Yahiaoui, S., Gracia, M.P., Lasa, J.M. and Igartua, E. (2008a). Joint analysis for heading date QTL in small interconnected barley populations. *Mol. Breed.* 21: 383-399.
- Cuesta-Marcos, A., Igartua, E., Ciudad, F.J., Codesal, P., Russell, J.R., Molina-Cano, J.L., Moralejo, M.A., Szucs, P., Gracia, M.P., Lasa, J.M. and Casas, A.M. (2008b) Heading date QTL in a spring ? winter barley cross evaluated in Mediterranean environments. *Mol Breed.* 21: 455-471.
- Cuesta-Marcos, A., Casas, A.M., Hayes, P.M., Gracia, M.P., Lasa, J.M., Ciudad, F.J., Codesal, P., Molina-Cano, J.L. and Igartua, E. (2008c). Yield QTL affected by heading date in barley grown under Mediterranean conditions. *Plant Breed.* (en prensa).
- Dale, J.E. and Wilson, R.G. (1979). The effects of photoperiod and mineral nutrient supply on growth and primordial production at the stem apex of barley seedlings. *Ann. Bot.* 44: 537-546.
- Dubcovsky, J., Lijavetzky, D., Appendino, L. and Tranquilli, G. (1998). Comparative RFLP mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement. *Theor. Appl. Genet.* 97: 968-975.

- Dubcovsky, J., Chen, C., Khan, I.A. and Yan, L. (2005). Molecular characterization of the allelic variation at the VRN-H2 vernalization locus in barley. *Mol. Breed.* 15: 395–407.
- Ehrenreich, I.M. and Purugganan, M.D. (2006). The molecular genetic basis of plant adaptation. *Amer J. Bot.*, 93:953–962.
- Ellis, R.H., Roberts, E.H., Summerfield, R.J. and Cooper, J.P. (1988). Environmental control of flowering in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Rate of development as a function of temperature and photoperiod and its modification by low-temperature vernalization. *Ann. Bot.* 62: 145-158.
- Evans, L.T. (1987). Short day induction of inflorescence initiation in some winter wheat varieties. *Aust. J. Plant Physiol.* 14: 277-286.
- Evans, L.T. (1993). Adaptation and the ecology of yield. En: *Crop Evolution, Adaptation and Yield*. Cambridge University Press, New York, NY. 116 pp.
- Faure, S., Higgins, J., Turner, A. and Laurie, D.A. (2007). The flowering locus T-like gene family in barley (*Hordeum vulgare*). *Genetics*, 176: 599-609.
- Feldman, M. (2001). Origin of cultivated wheat. pp. 3-56, in *The world wheat book*. Bonjean A.P. and, Angus W.J. (eds.). Paris, France: Lavoisier, 3–56.
- Flood, R.G. and Halloran, G.M. (1984). Temperature as a component of the expression of developmental responses in wheat. *Euphytica* 33: 91–98.
- Fowler, D.B., Breton, G., Limin, A.E., Mahfoozi, S. and Sarhan, F. (2001). Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. *Plant Physiol.* 127: 1676–1681.
- Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A.M., Galiba, G., Tóth, B., Hayes, P.M., Skinner, J.S. and Pecchioni, N. (2004). Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure' (winter) x 'Tremois' (spring) barley map. *Theor. Appl. Genet.* 108: 670-680.
- Franckowiak, J.D. (1997). Revised linkage maps for morphological markers in barley, *Hordeum vulgare*. *Barley Genet. Newsl.* 26: 9-21.
- Franckowiak, J.D. (2007). Revised linkage maps for morphological markers in barley, *Hordeum vulgare*. *Barley Genet. Newsl.* 37: 226-227.
- Franckowiak, J.D., Yu, G. and Krasheninnik, N. (2003). Genetic control of photoperiod responses in spring barley. p. 98, in *Proc. 3rd Canadian Barley Symposium*, 19 and 20 June, 2003, Red Deer, Alberta, Canada.
- Franckowiak, J.D., Krasheninnik, N.N. and Yu, G.T. (2004). Identifying Genes Controlling Heading Date in Spring Barley. pp. 44, in J. Spunar and J. Janikova (eds.), *Barley Genetics IX. Book of Abstracts, Proc. Ninth Int. Barley Genet. Symp.*, Brno, Czech Republic, June 20-26, 2004. *Czech J. Genetics Plant Breed.* 40:44.
- Fu, D., Szucs P., Yan, L., Helguera, M., Skinner, J., Hayes, P. and Dubcovsky, J. (2005). Large deletions in the first intron of the VRN-1 vernalization gene are associated with spring growth habit in barley and polyploid wheat. *Mol. Gen. Genomics* 273: 54–65.
- Gallagher, L.W., Soliman, K.M. and Vivar, H. (1991). Interactions among loci conferring photoperiod insensitivity for heading time in spring barley. *Crop. Sci.* 31: 256-261.

- García del Moral, L.F., Miralles, D.J. and Slafer, G.A. (2002). Initiation and appearance of vegetative and reproductive structures throughout barley development. pp. 243-268, in Slafer, G.A., Molina-Cano, J.L., Savin, R., Araus, J.L. and Romagosa, I. (Eds.). *Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality*. The Harworth Press Inc., New York, USA.
- Garner, W.W. and Allard, H.A. (1920). Effects of relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J. Agric. Res.* 18: 553-572.
- Goldringer, I., Prouin, C., Rousset, M., Galic, N. and Bonnin, I. (2006). Rapid differentiation of experimental populations of wheat for heading time in response to local climatic conditions. *Ann. Bot.* 98: 805-817.
- Halse, N.J. and Weir, R.N. (1970). Effect of vernalization, photoperiod and temperature on phenological development and spikelet number of Australian wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 21: 383-393.
- Haun, J.R. (1973). Visual quantification of wheat development. *Agron. J.* 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. *Ann. Bot.* 82: 541-554.
- Hayes, P.M., Ceroni, J., Witsenboer, H., Kuiper, M., Zabeau, M., Sato, K., Kleinhofs, A., Kudrna, D., Kilian, A., Saghai Maroof M., and Hoffman D. (1997). North American Barley Genome Mapping Project. Characterizing and exploiting genetic diversity and quantitative traits in barley (*Hordeum vulgare*) using AFLP markers. *J QTL* vol 3, art 2. <http://probe.nalusda.gov:8000/otherdocs/jqtl>.
- Hoogendoorn, J. (1985). The physiology of variation in the time of ear emergence among wheat varieties from different regions of the world. *Euphytica* 34: 559-571.
- Igartua, E., Austin, R.B., Casas, A.M., Ciudad, F.J., Gracia, M.P., Moraleja, M.A., Rharrabti, Y., Voltas, J., Lafarga, A., Romagosa, I., Montoya, J.L., Lasa, J.M. and Molina-Cano, J.L. (2002). Barley adaptation patterns in Northern Spain. pp. 357-362, in *Proceedings of the 4th International Triticeae Symposium*, Cordoba (España).
- Izawa, T. (2007). Adaptation of flowering-time by natural and artificial selection in *Arabidopsis* and rice. *J. Exp. Bot.* 58:3091-3097.
- Jabben, M. and Deitzer, G.E. (1979). Effects of the herbicide SAN-9789 on phytomorphogenic responses. *Plant Physiol.* 63: 481-485.
- Jackson, S. and Thomas, B. (1997). Photoreceptors and signals in the photoperiodic control of development. *Plant Cell Environ.* 20: 790-795.
- Johnson, L.P.V. and Taylor, A.R. (1958). Note on the effect of photoperiod and temperature on the development of spike primordia in barley. *Can. J. Plant Sci.* 39: 122-123.
- Karsai, I., Mészáros, K., Szucs, P., Hayes, P.M., Láng, L. and Bedő, Z. (1999). Effects of loci determining photoperiod sensitivity (*Phd-H1*) and vernalization response (*Sh2*) on agronomic traits in the 'Dicktoo' ? 'Morex' barley mapping population. *Plant Breed.* 118: 399-403.
- Karsai, I., Mészáros, K., Láng, L., Hayes, P.M. and Bedő, Z. (2001). Multivariate analysis of traits determining adaptation in cultivated barley. *Plant Breed.* 120: 217-222.
- Karsai, I., Szucs, P., Mészáros, K., Filichkina, T., Hayes, P.M., Skinner, J.S., Láng, L. and Bedő, Z. (2005). The *Vrn-H2* locus is a major determinant of flowering time in a facultative x winter growth habit barley (*Hordeum vulgare* L) mapping population. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1458-1466.

- Kato, K., Tanizoe, C., Beiles, A. and Nevo, E. (1998). Geographical variation in heading traits in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*. II. Variation in heading date and adaptation to diverse eco-geographical conditions. *Hereditas* 128: 33-39.
- Kato, K., Miura, H. and Sawada, S. (2002). Characterization of QEet.ocs-5A.1, a quantitative trait locus for ear emergence time on wheat chromosome 5AL. *Plant Breed.* 121: 389-393.
- Kirby, E.J.M., Appleyard, M. and Fellowes, G. (1985). Variation in development of wheat and barley in response to sowing date and variety. *J. Agric. Sci.* 104: 383-396.
- Kirby, E.J.M. and Appleyard, M. (1986). *Cereal Development Guide*. 2nd ed. Arable Unit, National Agric. Centre, England.
- Klepper, B., Rickman, R.W. and Peterson, C.M. (1982). Quantitative characterization of vegetative development in small cereal grains. *Agron. J.* 74: 789-792.
- Komatsuda, T., Pourkheirandish, M., He, C., Azhaguvel, P., Kanamori, H., Perovic, D., Stein, N., Graner, A., Wicker, T., Tagiri, A., Lundqvist, U., Fujimura, T., Matsuoka, M., Matsumoto, T. and Yano, M. (2006). Six-rowed barley originated from a mutation in a homeodomain-leucine zipper I-class homeobox gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 1424-1429.
- Large, E.C. (1954). Growth stages in cereals. Illustrations of the Feekes scale. *Plant Pathol.* 3: 128-129.
- Laurie, D.A., Pratchett, N., Bezant, J.H. and Snape, J.W. (1994). Genetic analysis of a photoperiod response gene on the short arm of chromosome 2 (2H) of *Hordeum vulgare*. *Heredity* 72: 619-627.
- Laurie, D.A., Pratchett N., Bezant J.H., 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.
- Law, C.N., Dean, C. and Coupland, G. (1993). Genes controlling flowering and strategies for their isolation and characterization. pp 47-68, in *The Molecular Biology of Flowering*. B.R. Jordan (ed). CAB International, Oxford, UK.
- Limin, A.E. and Fowler, D.B. (2002). Developmental traits affecting low-temperature tolerance response in near-isogenic lines for the vernalization locus *Vrn-A1* in wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Ann. Bot.* 89: 579-585.
- Lundqvist, U., Franckowiak, J.D. and Konishi T. (1997). New and revised descriptions of barley genes. *Barley Genet. Newsl.* 26: 22-516.
- Major, D.J. (1980) Photoperiod response characteristics controlling flowering of nine crop species. *Can. J. Plant Sci.* 60: 777-784.
- Molina-Cano, J.L. (1989). *La Cebada*. Coedición ediciones Mundi-Prensa y Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación; Servicio de Extensión Agraria. Madrid.
- Nilan, R.A. (1964). *The cytology and genetics of barley. 1951-1962*. Washington State University Press, Pullman. Pag 149-153.
- Rhoné, B., Remoué, C., Galic, N., Goldringer, I. and Bonnin I. (2008). Insight into the genetic bases of climatic adaptation in experimentally evolving wheat populations *Mol. Ecol.* 17: 930-943.
- Roberts, E.H., Summerfield, R.J., Cooper, J.P. and Ellis, R.H. (1988). Environmental control of flowering in barley (*Hordeum vulgare* L). I Photoperiod limits to long-day responses, photoperiod-insensitive phases and effects of low temperature and short-day vernalization. *Ann. Bot.* 62: 127-144.

- Salisbury, F.B. (1963). *The flowering process*. Pergamon Press London.
- Skinner, J.S., Szucs, P., von Zitzewitz, J., Marquez-Cedillo, L., Filichkin, T., Thomashow, M.F., Stockinger, E.J., Chen, T.H.H. and Hayes P.M. (2006). Mapping of barley homologs to genes that regulate low temperature tolerance in *Arabidopsis*. *Theor. Appl. Genet.* 112: 832-842.
- Slafer, G.A. and Rawson, H.M. (1994). Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: a reexamination of some assumptions made by physiologists and modellers. *Aust. J. Plant Physiol.* 21: 393-426.
- Smith, H. and Whitelam, G.C. (1990). Phytochrome, a family of photoreceptors with multiple physiological roles. *Plant Cell. Environ.* 13: 695-707.
- Stracke, S. and Börner, A. (1998). Molecular mapping of the photoperiod response gene *ea7* in barley. *Theor. Appl. Genet.* 97: 797-800.
- Sung, S. and Amasino R.M. (2004). Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7:4-10.
- Szucs, P., Skinner, J.S., Karsai, I., Cuesta-Marcos, A., Haggard, K.G., Corey, A.E., Chen, T.H.H. and Hayes P.M. (2007). Validation of the *VRN-H2/VRN-H1* epistatic model in barley reveals that intron length variation in *VRN-H1* may account for a continuum of vernalization sensitivity. *Mol. Genet Genom.* 277: 249-261.
- Takahashi, R., Hayashi, H., Yasuda, S. and Hiura U. (1963). Characteristics of the wild and cultivated barleys from Afghanistan and its neighboring regions. *Ber. Ohara inst. Landwirtsch. Biol* 12: 1-23.
- Takahashi, R., Hayashi, H., Hiura, U. and Yasuda S. (1968). A study of cultivated barleys from Nepal Himalaya and North India, with special reference to their phylogenetic differentiation. *Ber. Ohara inst. Landwirtsch. Biol.*, 14:85-122.
- Takahashi, R. and Yasuda, S. (1971). Genetics of earliness and growth habit in barley. pp 388-408, in: *Barley Genetics II*. R.A. Nilan (ed). Washington State University Press.
- Thomas, W.T.B. (2003). Prospects for molecular breeding of barley. *Ann. Appl. Biol.* 142:1-12.
- Thomas, B. and Vince-Prue, D. (1997). *Photoperiodism in plants*. Academic Press, New York, NY. 244 pp.
- Thompson, W.J. and Mathews, S. (1981). The effect of daylength and sowing on ear development in barley cultivars. Pp 518-526, in *Barley Genetics IV. Proceedings of the 4th International Barley Genetics Symposium*. Edinburgh, UK.
- Tranquilli, G.E. and Dubcovsky J. (2000). Epistatic interactions between vernalization genes *Vrn-A^m 1* and *Vrn-A^m 2* in diploid wheat. *J. Hered.* 91:304-306.
- Trevaskis, B., Hemming, M.N., Peacock, W.J. and Dennis E.S. (2006). *HvVRN2* Responds to day-length, whereas *HvVRN1* is regulated by vernalization and developmental status. *Plant Physiol.* 140: 1397-1405.
- Trione, E.J. and Metzger R.J. (1970). Wheat and barley vernalization in a precise temperature gradient. *Crop Sci.* 10: 390-392.
- Turner A., Beales J., Faure S., Dunford R.P., Laurie D.A. (2005). The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley. *Science* 310: 1031-1034.
- van Oosterom E.J. and Acevedo E. (1992). Adaptation of barley (*Hordeum vulgare* L) to harsh Mediterranean environments. III. Plant ideotype and grain yield. *Euphytica* 62: 29-38.

- von Bothmer, R., Sato, K., Komatsuda, T., Yasuda, S. and Fischbeck, G. (2003). The domestication of cultivated barley. pp. 9-27, in R von Bothmer, T van Hintum, H Knüppfer, K Sato (eds). *Diversity in Barley (Hordeum vulgare)*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands.
- von Zitzewitz, J., Szucs, P., Dubcovsky, J., Yan, L., Pecchioni, N., Francia, E., Casas, A.M., Chen, T.H.H., Hayes, P.M. and Skinner J.S. (2005). Molecular and structural characterization of barley vernalization genes. *Plant Mol. Biol.* 59: 449-467.
- Worland, A.J. (1996). The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica* 89: 49-57.
- Worland, A.J., Borner, A., Korzun, V., Li, W.M., Petrovic, S. and Sayers E.J. (1998). The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheat. *Euphytica* 100: 385-394.
- Yahiaoui, S. (2006). Diversidad genética en la colección nuclear de cebadas españolas. Tesis doctoral, Escuela Universitaria Politécnica de Ingeniería Agraria, Universidad de Lleida (Tesis doctoral).
- Yahiaoui, S., Igartua, E., Moralejo, M.A., Ramsay, L., Molina-Cano, J.L., Ciudad, F.J., Lasa, J.M., Gracia, M.P. and Casas A.M. (2008). Patterns of genetic and eco-geographical diversity in Spanish barleys. *Theor. Appl. Genet.* 116:271-282.
- Yan, L., Loukoianov, A., Tranquilli, G., Helguera, M., Fahima, T. and Dubcovsky J. (2003). Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100: 6263-6268.
- Yan, L., Loukoianov, A., Blech, A., Tranquilli, G., Ramakrishna, W., SanMiguel, P., Bennetzen, J.L., Echenique, V. and Dubcovsky J. (2004). The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* 303: 1640-1644.
- Yan, L., Fu, D., Li, C., Blechl, A., Tranquilli, G., Bonafede, M., Sanchez, A., Valarik, M., Yasuda, S. and Dubcovsky J. (2006). The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103: 19581-19586.
- Yasuda, S. (1981). The physiology of earliness in barley. pp 507-517. In: Asher, MJC, Ellis, R.P., Hayter, A.M. and Whitehouse, R.N.H. (eds) *Barley genetics IV*. Proc 4th Int Barley Genet Symp, Edinburgh University Press. Edinburgh., UK
- Young, K.J. and Elliott, G.A. (1994). An evaluation of barley accessions for adaptation to the cereal growing regions of Western Australia, based on time to ear emergence. *Aust. J. Agric. Res.* 45: 75-92.