



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

**EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA
PRECIPITACION DURANTE EL LLENADO DE
GRANO SOBRE LA DORMICION Y SENSIBILIDAD
AL AGUA EN GRANOS DE CEBADA (*HORDEUM
VULGARE L.*)**

Silvana N. González

Tesis

**Para optar al Grado Académico de
Magister en Ciencias Agropecuarias
Mención: Tecnología de Semillas**

Córdoba, 2020

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA PRECIPITACION DURANTE EL LLENADO DE GRANO SOBRE LA DORMICION Y SENSIBILIDAD AL AGUA EN GRANOS DE CEBADA (*Hordeum vulgare* L.)

Silvana N. González

Comisión Asesora de Tesis

Director: Ing. Agr. (Ph.D.) Luis Viega

Asesores: Ing. Agr. (M.Sc.) Carlos Rossi (Codirector)

Ing. Agr. (Ph.D.) Mariano Córdoba

Tribunal Examinador de Tesis

Ing. Agr.

Ing. Agr. (Ph.D) Mariano Córdoba

Ing. Agr.

Ing. Agr. (Ph.D) Sergio Alemano

Ing. Agr.

Ing. Agr. (Ph.D) Eliana López Colomba

Presentación formal académica

Junio 2020

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en estas líneas a muchas personas y colegas me han prestado su ayuda durante el proceso de investigación y redacción de este trabajo.

En primer lugar, quiero expresar mi reconocimiento al Ing. Agr. (M.Sc.) Andrés Beretta, por mostrarme el camino y caminar conmigo.

Otra mención especial merece la Ing. Agr. (M.Sc.) Silvina Fiant por su colaboración de forma incesante para que este proyecto culminara.

Quiero agradecer las revisiones hechas por de mi director, Ing. Agr. (Ph.D) Luis Viega y co-directores Ings. Agrs. (MS.c.) Carlos Rossi y (Ph.D) Mariano Córdoba y a los integrantes del tribunal examinador que enriquecieron este trabajo.

Al INIA, Uruguay, por la financiación de mis estudios.

Dedicado a *Santiago* y *Sebastián*, fueron faros en la tormenta, a mi madre *Diva*, mi hermana *Andrea* y a mi querida amiga *Ana*, mujeres poderosas que me dejaron como legado la resiliencia.

RESUMEN

Los granos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) pueden presentar dormición y sensibilidad al agua poscosecha, que retrasan su utilización industrial. Ambas, dependen del genotipo y del ambiente durante la maduración del grano. Con el fin de analizar el efecto de la temperatura media y las precipitaciones acumuladas durante y en el tercio final del llenado de grano, sobre la dormición y la sensibilidad al agua y la relación entre ellas, tres cultivares de cebada fueron sembrados en cuatro fechas en 2009 y dos fechas en 2011. Se registraron temperaturas medias y precipitaciones diarias desde antesis a madurez fisiológica. La dormición se evaluó como la germinación a los 12 días pos-madurez fisiológica y la sensibilidad al agua como la germinación en exceso de agua, a los 100 días pos-madurez fisiológica. Las variables que se relacionaron con la germinación y sensibilidad al agua fueron la temperatura media y las precipitaciones acumuladas durante el llenado de grano. Ambientes con mayores temperaturas medias durante el llenado de grano disminuyeron la dormición, no así la sensibilidad al agua, cuya variación dependió del cultivar. El incremento de las precipitaciones durante el llenado de grano disminuyó la dormición, pero aumentó la sensibilidad al agua en los tres cultivares.

Palabras clave: análisis; efectos ambientales; germinación; *Hordeum vulgare*; semillas.

ABSTRACT

After harvesting, barley grains (*Hordeum vulgare* L.) can show dormancy and water sensitivity, which delays industrial use. Both effects depend on the barley genotype and environmental conditions during grain maturation. In order to analyze the effect of the average temperature and the total rainfall accumulated during and in the final third of the grain filling, on the dormancy and water sensitivity and the relationship between them, three barley cultivars were sowing on four dates in 2009 and two dates in 2011. Mean temperature and daily rainfall were recorded from anthesis to physiological maturity. Dormancy was evaluated as germination at 12 days post physiological maturity and the water sensitivity as germination in water excess conditions at 100 days post physiological maturity. The variables that presented correlation with germination and water sensitivity were average temperature and accumulated rainfall during grain maturity. Environments with average high temperature during grain filling, reduced dormancy, but water sensitivity decrease, was cultivar dependent. The increase of rainfall during grain filling, decreased dormancy, but increased water sensitivity in all three cultivars.

Keywords: analysis; environmental effects; germination; *Hordeum vulgare*; seeds.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO 1.....	1
INTRODUCCION GENERAL.....	1
DORMICION	1
SENSIBILIDAD AL AGUA.....	10
HIPÓTESIS	15
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
CAPÍTULO 2.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS	17
MATERIAL VEGETAL	17
UBICACIÓN	18
DISEÑO EXPERIMENTAL Y MANEJO DEL CULTIVO	18
DURACIÓN DEL LLENADO DE GRANO.....	18
OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS	19
EVALUACIÓN DE DORMICION	19
EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD AL AGUA.....	20
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
CAPÍTULO 3.....	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA	22
GERMINACIÓN.....	25
SENSIBILIDAD AL AGUA.....	26
CAPÍTULO 4.....	30
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	31

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Sensibilidad al agua, para tres cultivares de cebada según, localidad y fecha de siembra para los años 2007 y 2008

Tabla 2. Fecha de siembra, temperatura media y precipitación acumulada, desde antesis a madurez fisiológica y en el último tercio del período de llenado de granos, para tres cultivares de cebada sembrados en cuatro fechas en 2009 y dos fechas en 2011.

Tabla 3. Coeficientes de correlación de las variables T_{A-MF} ($^{\circ}C$), P_{A-MF} (mm), T_{UT} ($^{\circ}C$) y P_{UT} (mm), para las estimaciones de los valores de germinación y sensibilidad al agua (n=60).

Tabla 4. Valores de R^2 y parámetros de los modelos lineales; ordenada en el origen (A) y los coeficientes de regresión de las variables T_{A-MF} ($^{\circ}C$) y P_{A-MF} (mm), para las estimaciones de los valores de germinación y sensibilidad al agua para cada cultivar (n=20).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperaturas (°C) promedio históricas y temperatura media registradas durante el período mayo a diciembre de 2009 y 2011 en la Localidad de La Estanzuela. Fuente: INIA GRAS (serie 1965-2011)

Figura 2. Precipitaciones (mm) promedio históricas y precipitación acumulada mensual durante el período mayo a diciembre de 2009 y 2011 en la Localidad de La Estanzuela. Fuente: INIA GRAS (serie 1965-2011)

Figura 3. Germinación de los granos de cebada a los 12 días pos-madurez fisiológica para los cultivares, INIA Ceibo (IC), INIA Guaviyú (IG) y MP1010 (MP), en cuatro fechas de siembra en 2009 y dos fechas de siembra en 2011. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) dentro de cada cultivar. Las barras verticales representan el error estándar

Figura 4. Sensibilidad al agua (%) de los granos de cebada a los 100 días pos-madurez fisiológica para los cultivares INIA Ceibo (IC), INIA Guaviyú (IG) y MP1010 (MP) en cuatro fechas de siembra en 2009 y dos fechas de siembra en 2011. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) dentro de cada cultivar. Las barras verticales representan el error estándar

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ABA: Acido abscísico

Gas: Giberelinas

IC: INIA Ceibo

IG: INIA Guaviyú

MP: Maltería Pampa

TT: Tiempo térmico

T_{md} : Temperatura media del aire

T_b : Temperatura base

A: Antesis

MF: Madurez fisiológica

UT: Último tercio de llenado de grano

T_{AM} : Temperatura media desde antesis y madurez fisiológica

P_{AM} : Precipitación acumulada desde antesis y madurez fisiológica

T_{UT} : Temperatura media en el último tercio de llenado de grano

P_{UT} : Precipitación acumulada en el último tercio de llenado de grano

CV. Cultivar

CVS. Cultivares

INTRODUCCION GENERAL

En Uruguay el principal destino del cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.) es la producción de malta para la fabricación de cerveza. Los granos de cebada pueden presentar dormición y sensibilidad al agua al momento de la cosecha. La dormición consiste en un bloqueo de la germinación en condiciones adecuadas de temperatura, agua y oxígeno; la sensibilidad al agua es la disminución de la germinación en condiciones de exceso de agua (Benech-Arnold *et al.*, 1999).

Cuando se maltean granos con dormición y sensibilidad al agua, la germinación es lenta y desapareja, (Benech-Arnold *et al.*, 2006), lo cual reduce la calidad de malta e incrementa el costo financiero de la industria maltera.

Estas características retrasan la utilización industrial del grano para la producción de malta, debido a que es necesario un período de almacenamiento prolongado para que el mismo alcance su máxima germinación y vigor (Arias, 1991). A los efectos de disminuir el período de almacenamiento sería deseable que los cultivares en uso no presenten dormición. Sin embargo, un cierto grado de dormición es necesario para prevenir el pre-germinado en espiga en años con exceso de lluvia durante el período de cosecha (Reuss *et al.*, 2003).

DORMICION

IMPLICANCIA DE LA DORMICIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y UTILIZACIÓN DEL CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE MALTA

La dormición de los granos no debe ser ni excesivamente corta, que genere pre-germinado durante el llenado de grano del cultivo, ni excesivamente larga, que impida su inmediata utilización industrial para la producción de malta (Zhang *et al.*, 2012). La susceptibilidad al pre-germinado en cebada cervecera está dada por la salida anticipada de la dormición de los granos antes de la cosecha (Steinbach *et al.*, 1995). Si existe un nivel de dormición bajo en el período entre madurez fisiológica a madurez de cosecha, una breve exposición de los granos a humedad ambiental alta puede provocar pre-germinado (Chapman, 2011), situación que se registró en Uruguay en el año agrícola 2008-2009 (Souto, 2009).

Para la producción de malta es necesario que el grano germine, consecuentemente es deseable que el porcentaje de granos viables al inicio del almacenamiento sea máximo y que la pérdida de esta viabilidad se produzca a la menor tasa posible. El brotado pre-cosecha obstaculiza la consecución de este objetivo (Del Fueyo *et al.*, 2003; Yueshu y McCaig, 2011), debido a que provoca la pérdida inmediata de la viabilidad del grano y/o reduce su potencial de almacenamiento (Benech-Arnold, 2001).

En Uruguay, los estándares de comercialización de grano de cebada cervecera para industria establecen una base mínima de 98% de capacidad germinativa, sujeta a rechazo del cereal de no cumplir con el estándar (Gómez, 2013). Junto con el contenido de proteína y el calibre, la capacidad germinativa de los granos es uno de los factores más importantes que hacen a la calidad de un lote de cebada cervecera. Los granos que no germinan afectan la calidad del proceso industrial y del producto elaborado; favorecen el crecimiento de mohos y disminuyen el rendimiento del extracto de malta (Pitz, 1990; Sole, 1994).

Por otra parte, cuando la dormición es excesivamente larga se realiza su remoción por medios químicos o a través del almacenamiento de los granos. Las condiciones de almacenamiento pos-cosecha determinan la tasa de disminución de la dormición. Este proceso se conoce con el nombre de pos-maduración en seco y tiene lugar en una amplia variedad de especies vegetales (Bewley y Black, 1994). El almacenamiento de granos por un período variable con el fin de recuperar su capacidad germinativa ocasiona retrasos en el malteo con el consecuente aumento del costo de almacenamiento que se traslada a la malta (Benech- Arnold, 2001).

Ajustar la salida de la dormición de los granos a los requerimientos de las malterías y a las condiciones del ambiente de producción, ubicándola en una precisa y estrecha ventana de tiempo, constituye una tarea muy difícil. El genotipo ideal sería aquel cuya ventana de salida de la dormición se ubique inmediatamente después de madurez de cosecha, no tan temprano como para sufrir daños por pre-germinado, ni tan tarde como para tener que almacenar el grano por largos períodos de tiempo hasta que éste pierda su dormición (Gualano, 2004; Helm, 2011).

MECANISMOS QUE IMPONEN LA DORMICIÓN

La imposición de la dormición en los granos de cebada ocurre temprano en su desarrollo. Los embriones generalmente son capaces de germinar a partir de 15-20 días post-antesis si son aislados de los granos enteros e incubados en agua. Sin embargo, los embriones dentro del grano alcanzan esta capacidad bastante tiempo después ya que, la salida de la dormición rara vez comienza antes de que el cultivo alcance la madurez fisiológica. Pero una vez que se ha alcanzado esta etapa, algunos cultivares se liberan abruptamente de la dormición (dentro de pocos días), otros más gradualmente (dentro de semanas), mientras que otros permanecen latentes por muchos meses (Benech-Arnold, 2001).

Existen diferentes tipos de dormición, la incapacidad de germinar puede estar localizada dentro del embrión (dormición embrionaria) o puede resultar de la acción inhibidora de las cubiertas (dormición impuesta por las cubiertas) (Corbineau y Côme, 1995). Este último mecanismo es responsable de la dormición en los granos de cebada, la misma, está condicionada por las glumelas (el lema y la palea) adheridas a los cariopses (Corvineau y Côme, 1995; Lenoir *et al.*, 1986, Bradford *et al.*, 2008). Las glumelas poseen gran cantidad de componentes fenólicos cuya oxidación por enzimas polifenoloxidasas reduce el suministro de oxígeno al embrión (Côme, 1982). Aproximadamente 40-50% del total de oxígeno que ingresa a la semilla es absorbido por la actividad de dichas enzimas, sin embargo, esto no afecta la producción de energía (esencialmente ATP) del embrión (Bewley y Black, 1994). No obstante, condiciona el catabolismo del ácido abscísico (ABA) hormona inhibidora de la germinación y la biosíntesis de giberelinas (Gas), promotoras de la germinación) (Millar *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2010; Mendiondo *et al.*, 2010). De esta manera

afecta el balance entre el ABA y las Gas que tienen un rol fundamental en la germinación y regulación de la dormición (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Bradford *et al.*, 2008) entre otras hormonas que generan un complejo “cross-talk” hormonal y oxidativo dentro de la semilla (Brady y McCourt, 2003). Una técnica utilizada por las malterías es el agregado de Gas a granos de cebada con dormición ya que reduce marcadamente su sensibilidad a bajos porcentajes de O₂ y superan el efecto inhibitorio de las glumelas (Lecat *et al.*, 1992).

La temperatura juega un rol fundamental en la modulación de la inhibición que imponen las cubiertas en la germinación de los granos de cebada. En semillas de cebada con dormición, la fijación de oxígeno en las glumelas corresponde a 28, 37 y 53% del total de oxígeno que ingresa a la semilla a 10, 20 y 30°C, respectivamente (Lenoir *et al.*, 1986). Esto se debe a que con incrementos de la temperatura el oxígeno es menos soluble y la oxidación de los componentes fenólicos es más intensa (Côme, 1982). Esta condición es conocida como “dormición relativa” (Belew y Black, 1994).

Por otra parte, la capacidad del consumo de oxígeno de las glumelas decrece durante el almacenamiento y consecuentemente la dormición (Bewley y Black, 1994). En este sentido Lenoir *et al.* (1986) reportaron que granos de cebada recién cosechados germinaron pobremente incluso en una atmósfera con 100% de O₂, mientras que la remoción de las glumelas a la cosecha o luego de un período de maduración posterior permitieron obtener una máxima germinación con 10% o 3% de O₂ respectivamente.

El genotipo y las condiciones durante la maduración del grano intervienen en la estructura, espesor y propiedades bioquímicas de las cubiertas (Corvineau y Côme, 1995) y consecuentemente en la limitación en la difusión del oxígeno hacia el embrión y la modulación de la dormición (Lenoir *et al.*, 1986; Benech-Arnold *et al.*, 2006).

La dormición impuesta por las cubiertas constituye la barrera que impide la germinación prematura, su duración depende del genotipo y del ambiente durante el desarrollo y la pos-maduración de la semilla (Gualano, 2004).

CONTROL GENÉTICO

La dormición en cebada es controlada por muchos genes y, fuertemente influenciada por el ambiente (Castro *et al.*, 2010; Gong *et al.*, 2014). Esta combinación de factores determina la dificultad para fenotipar y predecir fiablemente el genotipo de las líneas resistentes a brotado en el campo (Zhang *et al.*, 2012).

En cebada numerosas investigaciones han sido conducidas para identificar QTLs que controlan la dormición, QTLs mayores y menores son implicados en el control de ésta, en particular: QTLs en cromosomas 2H (Thomas *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2003; Prada *et al.*, 2004; Bonnardeaux *et al.*, 2008) y 5H (Thomas *et al.*, 1996; Ullrich *et al.*, 1993, 2002, 2008; Oberthur *et al.*, 1995; Han *et al.*, 1996; Takeda, 1996; Li *et al.*, 2003; Prada *et al.*, 2004; Bonnardeaux *et al.*, 2008 y Castro *et al.*, 2010; citados por Zhang *et al.* (2012).

En cebada, los cultivares que son susceptibles a brotado en planta, tienen una mayor velocidad de salida de la dormición, porque la dormición impuesta por las cubiertas finaliza en forma anticipada, tiempo antes de madurez de cosecha (Gualano, 2004). Como resultado, podemos encontrar cultivares con diferente velocidad de salida de la dormición después de madurez fisiológica, esto determina el período de tiempo en el cual obtienen su máxima capacidad de germinación. Algunos cultivares salen rápidamente de la dormición (días), otros más gradualmente (semanas) y otros permanecen dormidos por muchos meses (Benech-Arnold, 2001).

CONTROL AMBIENTAL

Las condiciones ambientales experimentadas por la planta madre, modulan la dinámica de la salida de la dormición de los granos. En los cultivares con una alta velocidad de salida de la dormición luego de madurez fisiológica y en aquellos con dormición persistente, los factores ambientales pueden tener escaso o nulo efecto sobre su comportamiento frente a brotado precosecha. Sin embargo, los cultivares con una velocidad de salida de la dormición intermedia se pueden comportar como resistentes a pre-germinado en algunos años, o como susceptibles en otros, según sean las condiciones ambientales

durante el desarrollo de los granos. Entre ellos, la temperatura del aire aparece como uno de los factores más importantes que regulan la dormición del grano de cebada (Benech Arnold, 2001).

Numerosos trabajos mencionan la relación entre la temperatura experimentada por la planta madre durante el llenado de grano y el nivel de dormición de los granos (Reiner y Loch 1976; Derkx *et al.*, 1993; Gutterman *et al.*, 1996; Rodríguez *et al.*, 2001; Gong *et al.*, 2014). Kumar *et al.* (2013) señalan que bajas temperaturas durante el llenado de grano, inducen dormición a cosecha y el comportamiento depende del genotipo. En Uruguay, Benítez (1999) reportó que incrementos de la temperatura media del aire desde la anthesis a la madurez fisiológica redujeron de diferente forma la dormición en cinco genotipos de cebada cervecera. Sin embargo, otros estudios limitaron el efecto de la temperatura en la dormición de los granos de cebada en la última etapa de llenado de grano. En este sentido, Rodríguez *et al.* (2001), reportaron que aumentos de la temperatura media del aire de 300 a 350 grados días (GDD) en el tercio final del llenado de grano, incrementaron el índice de germinación a los 12 días posteriores a madurez fisiológica ($r^2=0,95$) en el cv. Quilmes Palomar. Gualano (2004) detectó que la sensibilidad a la temperatura se localizó en la última etapa del llenado (250-300 GDD) para el cv. Scarlett, 275-325 GDD para los cvs. Quilmes Ayelén y Quilmes Painé y 300-350 GDD para el cv. Quilmes Palomar, excepto para el cv. B1215 que no mostró una ventana de sensibilidad a la temperatura dentro del período de llenado de grano. Estudios más recientes (Castro *et al.*, 2010) reportaron una estrecha relación ($r^2=0,52$) entre la temperatura media del tercio final del llenado de grano y el nivel de dormición de los granos de 100 líneas dobles haploides derivados del cruzamiento BCD47 x Baronesse. Las temperaturas durante el llenado de grano modulan la dormición a cosecha debido a que regulan el contenido y/o la sensibilidad del embrión al ABA (Benech-Arnold, 2004).

Además de la temperatura, otros factores ambientales (disponibilidad hídrica, nutricional y fotoperíodo) influyen en la determinación de la tasa de salida de la dormición de un cultivo de cebada a través de alteraciones en el balance hormonal del grano (Gualano, 2004). En este sentido, Gualano (2004) no obtuvo diferencias significativas en el patrón de salida de la dormición de los granos de cinco cultivares de cebada provenientes de parcelas sin restricción hídrica en relación a aquellos bajo déficit hídrico durante todo el período del

llenado de grano. Sin embargo, Aspinall (1965) y Biddulph *et al.* (2007) mencionaron que la sequía impuesta durante el llenado de grano incrementó la dormición en cebada y en trigo respectivamente. Por otra parte, la sensibilidad a la disponibilidad hídrica podría limitarse, como en el caso de la temperatura a la última etapa del llenado de grano y no a todo el período del mismo (Gualano, 2004). Existen escasos estudios del efecto de las precipitaciones durante el llenado de grano en la dormición. En años con lluvias por debajo del promedio durante esta etapa, un cultivar de cebada con dormición moderada puede presentar una reducción de la dormición e incrementar los riesgos de daño por pregerminado en el campo (Benech-Arnold, 2001).

EL ROL DEL ABA EN LA INDUCCIÓN DE LA DORMICIÓN

CONTENIDO DE ABA

El desarrollo del grano se divide en dos fases aproximadamente de igual duración. Durante la primera fase ocurren los procesos de formación del embrión y los tejidos de reserva (endosperma), esta etapa es llamada morfogénesis (Raz *et al.*, 2001). La cesación de la división celular marca el comienzo de la segunda etapa o fase de maduración que incluye el crecimiento del embrión, llenado efectivo del grano, acumulación de reservas, desarrollo de la tolerancia a la desecación y quiescencia (Finkelstein, 2004; Gutierrez *et al.*, 2007).

El ABA juega un rol crucial durante el desarrollo del grano especialmente durante la maduración (Finkelstein *et al.*, 2002; Nambara *et al.*, 2010). Durante el desarrollo, existen dos picos de acumulación de ABA, uno de origen materno que ocurre en la etapa de maduración temprana alrededor de 9-10 días posteriores a la floración, coincide con el inicio de llenado del grano y ayuda a prevenir la germinación anticipada del embrión (Karssen *et al.*, 1983). El otro pico es de origen embrionario y se produce en una etapa tardía del desarrollo (maduración tardía), a los 14-16 días posteriores a la floración, su función es inducir dormición y tolerancia a la desecación, a través de la regulación de la síntesis de

proteínas que intervienen en dichos procesos (Karssen *et al.*, 1983; Finkelstein *et al.*, 2002; Finkelstein, 2004). En esta segunda etapa el grano sufre un proceso de desecación que implica la pérdida de hasta un 90% del contenido hídrico de la semilla, por el cual ingresa en un estado latente de dormición. El embrión es capaz de tolerar esta situación gracias a que el ABA induce la expresión de un complejo de proteínas llamadas LEA, (por las siglas en inglés de Late Embryogenesis Abundant) que proporcionan tolerancia a la desecación. Estas proteínas son pequeñas moléculas hidrofílicas que se acumulan en la etapa de madurez tardía, retienen agua y protegen a las membranas y al resto de proteínas del daño que pudieran sufrir a causa de la disponibilidad limitada de agua (Cutler *et al.*, 2010; Nambara *et al.*, 2010).

Por otra parte, numerosos trabajos de investigación asocian el contenido de ABA endógeno durante el desarrollo del grano con la dormición. Por ejemplo, mutantes de *Arabidopsis* (deficientes en la síntesis de ABA) no presentaron dormición en sus semillas maduras (Hilhorst, 1995). Sin embargo, Goggin *et al.* (2009) no registraron diferencias en el ABA endógeno entre semillas durmientes y no durmientes embebidas de *Lolium rigidum* Gaud, ni entre cariopsis de arroz rojo (*Oryza sativa* L. f. *spontanea* Roshev.) con diferentes niveles de dormición (Gianinetti y Vernieri, 2007). Estudios recientes (Vigliocco *et al.*, 2019) determinaron que en la inducción de la dormición podrían estar involucrado el ácido salicílico además del contenido de ABA y de Gas.

Millar *et al.* (2006) determinaron que granos con y sin dormición de *Arabidopsis* y de cebada presentaron similares contenidos de ABA y que estos disminuyeron rápidamente después de la imbibición, en forma más rápida en granos sin dormición que con dormición. Esto se correspondió con una mayor expresión del gen que codifica la ABA 8'-hidroxilasa (enzima que degrada ABA) en semillas sin dormición lo que permitió el descenso en el contenido de ABA endógeno con mayor rapidez. La señal fue confinada en la coleoriza, lo que sugiere que este tejido desempeña un papel clave en la liberación de la dormición.

SENSIBILIDAD AL ABA

La inducción de la dormición depende de la síntesis de ABA pero también de la sensibilidad al ABA. Evaluar la respuesta germinativa ante concentraciones crecientes de ABA exógeno es conocido como sensibilidad al ABA y es señalado como indicador del nivel de dormición de las semillas (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Granos con mayor nivel de dormición presentaron una inhibición de la germinación a concentraciones de ABA menores que las requeridas para inhibir la germinación de granos sin dormición (Walker-Simmons, 1987; Romagosa *et al.*, 2001). En este sentido, Walker-Simmons (1987) comparó materiales de trigo resistentes (alta dormición) y susceptibles (baja dormición) al brotado en planta madre donde las concentraciones de ABA fueron similares. Sin embargo, embriones aislados de ambos cultivares, difirieron en su reacción al ABA. La germinación de embriones de los cultivares con alta dormición fue inhibida por concentraciones de ABA que no afectaron a los embriones con baja dormición. El ABA actúa en la dormición regulando la expresión de ciertos genes, la inducción de la síntesis de muchos tipos de polipéptidos es estimulada por ABA (Thomas *et al.*, 1991), así como los genes que codifican el movimiento de enzimas para la movilización de reservas son reprimidos si se adiciona ABA exógeno a embriones aislados.

Benech-Arnold *et al.* (1999) estudiaron la velocidad de salida de la dormición en dos cvs. de cebada, B1215 (muy susceptible a brotado) y Quilmes Palomar (moderadamente resistente a brotado) y encontraron que la tasa en que los granos perdieron su dormición se correlacionó con diferencias en el contenido y sensibilidad del embrión al ABA. Según estos autores, después de la madurez fisiológica, los embriones del cv. B1215 comenzaron a reducir su contenido de ABA y a perder la sensibilidad a éste, mucho antes que los del cv. Quilmes Palomar.

Como fue mencionado anteriormente las cubiertas del grano de cebada limitan el suministro de oxígeno al embrión a partir de la fijación de este gas por la oxidación de compuestos fenólicos, y esto modula la dormición de los granos de cebada. Durante la pos-maduración se incrementa la permeabilidad de las cubiertas al oxígeno y la sensibilidad a las Gas, la sensibilidad al ABA decrece (Benech-Arnold *et al.*, 2006) y esto contribuye al crecimiento del embrión (Nonogaki *et al.*, 2007).

SENSIBILIDAD AL AGUA

Los mecanismos responsables de la sensibilidad al agua permanecen desconocidos, pero guardan estrecha relación con la dormición. Al igual que la dormición es una característica que depende del genotipo, de las condiciones del ambiente durante la maduración del grano (Reuss *et al.*, 2003) y disminuye con un período de pos-maduración de 30 a 90 días (Arias, 1991).

La sensibilidad al agua se estima mediante el test de Pollock (1962) como la diferencia entre la germinación después de 3 días con 4 ml en relación a 8 ml, cuando dicha diferencia es menor a 10% decimos que es muy poco sensible, poco sensible con 10-25%, sensible con 26-45% y muy sensible más de 45% (Arias, 1991). En Uruguay, las malterías establecen que el perfil deseable de una cebada cervecera es aquella que tiene una capacidad germinativa mínima de 98% y sensibilidad al agua menor a 10% (Gómez, 2013).

RELACIÓN DE LA SENSIBILIDAD AL AGUA CON LA DORMICIÓN PRIMARIA

Castro *et al.* (2010) estudiaron las bases genéticas de la sensibilidad al agua con una población de 100 líneas doble haploides caracterizada genotípicamente con marcadores moleculares, y comprobaron que el factor genético que controla la sensibilidad al agua y la dormición se encuentran en una misma región genómica, siendo los alelos que contribuyeron a la mayor dormición los mismos que contribuyeron a la mayor sensibilidad al agua.

Wooton *et al.* (2005) estudiaron la evolución de la dormición y la sensibilidad al agua de cinco materiales de cebada cervecera a los 15, 100 y 378 días de almacenamiento y observaron que la germinación con 8ml de agua se reduce en la medida que la dormición disminuye para 4 de las 5 variedades estudiadas, esto indica que la tasa de germinación de los granos y la habilidad de los mismos de germinar en exceso de agua podría estar controlada por mecanismos similares. No obstante esto, uno de los cinco materiales presentó un comportamiento diferencial que consistió en una disminución de la dormición con el incremento del tiempo de almacenamiento, pero una constante y elevada sensibilidad al

agua. Este comportamiento fue atribuido a condiciones de mayor humedad ambiente durante la formación del grano que incrementó la presencia de microorganismos en las semillas, evidenciado durante la germinación con 8ml agua.

RELACION DE LA SENSIBILIDAD AL AGUA CON LA DORMICIÓN SECUNDARIA

Algunas semillas sin dormición al ser expuestas a condiciones desfavorables para la germinación ingresan en un estado de dormición secundaria. Briggs (1978) menciona que la sensibilidad al agua es una forma de dormición secundaria donde la germinación es reducida bajo exceso de agua. La mayoría de los estudios sobre dormición en cereales se han llevado a cabo en semillas con dormición primaria por lo tanto es reducida la información acerca de los procesos que regulan la dormición secundaria (Hoang *et al.*, 2013).

Ejemplos de este tipo de dormición fue reportado por Copeland y McDonald (1995) en semillas de trigo y cebada en la que la dormición secundaria puede ser inducida luego de un proceso de secado con temperaturas entre 50 a 90°C, o cuando las semillas son almacenadas en condiciones de alta humedad. Adicionalmente la exposición de cereales a alta temperatura del aire (30°C) induce dormición secundaria (Corbineau *et al.*, 1993; Leymarie *et al.*, 2008; Hoang *et al.*, 2012).

Ibarra *et al.* (2016) estudiaron la dormición inducida en *Arabidopsis thaliana* mediante la incubación de semillas a 25°C en oscuridad durante 4 días y demostraron que la inducción de dormición secundaria implicó cambios en el contenido y sensibilidad de giberelinas, mientras que el contenido y la sensibilidad al ABA permanecieron incambiados.

Aunque el mecanismo de inducción más estudiado ha sido el de la temperatura, la ausencia o presencia de luz, exceso o ausencia de agua, compuestos químicos y gases, también pueden inducir dormición secundaria (Copeland y McDonald, 1995). Varios trabajos de investigación señalaron que la germinación de la semilla de cebada es sensible al contenido de agua del medio de germinación, (Essery *et al.*, 1954; Hay, 1962; Negbi *et al.*, 1966; Roberts, 1969; Matthews y Collins, 1975). El exceso de agua reduce la entrada de

oxígeno al embrión y la deficiencia de oxígeno limita el crecimiento radicular (Bewley y Black, 1994). Crabb y Kirsop (1969) determinaron que incrementos en el contenido de oxígeno revierten esta dormición inducida por el exceso de agua. Adicionalmente Hough, (1985) indica que cultivares de cebada sensibles al exceso de agua necesitan para germinar una mayor concentración de oxígeno con respecto a cultivares no sensibles.

Por otra parte, Harvey y Rossnagel, (1983) y Jansson *et al.* (1959) mencionaron que el pericarpio es el que ejerce el control principal sobre la dormición y la sensibilidad al agua, si se remueve o daña el tejido la dormición y la sensibilidad al agua decrecen. En este sentido se ha demostrado la influencia positiva del oxígeno en la germinación de cebada en un ambiente saturado con peróxido de hidrogeno (Perry y Ellerton, 1983; Hosnedl y Honsová, 2002). Los granos de cebada con dormición son más sensibles a la falta de oxígeno que los sin dormición. En este sentido, Corbineau y Come (1995), estudiaron el efecto de la concentración de oxígeno (5, 10, 15 y 20%) en la germinación a la cosecha, 2, 6 y 9 meses de almacenamiento y observaron que con el incremento en el tiempo de almacenamiento la sensibilidad a la falta de oxígeno disminuye y aumenta la germinación. Trabajos recientes conducidos por Vigliocco *et al.*, 2019 mencionan la importancia de las especies reactivas al oxígeno (ROS) en la ruptura de la dormición. Estos autores demostraron que en semillas de girasol la pérdida de dormición se vinculó con la disminución de ácido salicílico y el aumento de H₂O₂ como consecuencia de una menor actividad de enzimas antioxidantes. Jansson (1962) mencionó que la sensibilidad al agua es una forma de dormición que aparece cuando los granos están expuestos a condiciones de clima húmedo y frío en las últimas etapas del proceso de maduración.

RELACION DE LA SENSIBILIDAD AL AGUA CON LA ACTIVIDAD MICROBIANA

En el campo, los granos de cebada son colonizados por microbios poco después de la emergencia de la espiga (Olkku *et al.*, 2005). Los niveles en que bacterias, hongos y levaduras están presentes después de la cosecha, dependen de las condiciones del ambiente durante el crecimiento y maduración de los granos, condiciones más húmedas en estas

etapas, favorecen el crecimiento microbiano (Kelly y Briggs, 1992). Además, las condiciones de maduración condicionan la calidad del grano y el ingreso de microorganismos, ya que cuando el grano no está dañado, la testa restringe el ataque de los microbios hacia el interior del endospermo (Schmidt, 1991).

Los microbios inciden en la sensibilidad al agua y la dormición de los granos de cebada ya que representan un factor de competencia por oxígeno (Doran y Briggs, 1993; Kelly y Briggs, 1992; Van Campenhout, 2000). Las bacterias dominan numéricamente la comunidad microbiana de los granos de cebada antes de la cosecha (Angelino y Bol, 1990), aproximadamente 10 millones de bacterias son frecuentemente detectados en un gramo de cebada (Flannigan, 2003; Noots *et al.*, 1999). Las especies predominantes son *Pantoea agglomerans* y *Xanthomonas campestris* (Flannigan, 1996). En condiciones de exceso de agua las bacterias incrementan su actividad, forman un biofilm que restringe la difusión del oxígeno al interior del grano (Briggs, 1992; Thomas y Usher, 2001) y en consecuencia inducen sensibilidad al agua (Gaber y Roberts, 1969; Noot *et al.*, 1999; Woonton *et al.*, 2005). Yan *et al.* (2017) caracterizaron las comunidades bacterianas activas asociadas con semillas y raíces de cinco cultivares de cebada. Reportaron que el genotipo es un factor determinante en la configuración del microbioma asociado a la semilla. Identificaron un conjunto de unidades taxonómicas operativas (OTUs), que comprende miembros que pertenecen a 12 familias, incluidas *Phyllobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Propionibacteriaceae*.

Los hongos son el segundo grupo de importancia (Flannigan, 2003), los que predominan son *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Fusarium* y *Epicoccum* (Petters *et al.*, 1988). El género *Fusarium* es el grupo más importante de hongos relacionados con cebada y malta, más de 70 especies son incluidas en este género (Leslie y Summerell, 2006). *Fusarium* crece rápidamente con el remojo en el proceso de malteo, incluso cuando los granos de cebada tienen reducido nivel de infección (Laitila *et al.*, 2002), mientras que otros hongos como *Alternaria* y *Cladosporium* declinan rápidamente (Douglas y Flannigan 1988; Haikara *et al.*, 1977). Es así que Woonton *et al.* (2005) observaron que en granos con presencia de microorganismos la dormición durante el almacenamiento disminuyó, pero la sensibilidad al agua permaneció elevada.

Una práctica comúnmente utilizada durante el malteo es la acidificación biológica del agua de remojo con *Lactobacillus Plantarum* y *Pediococcus pentosaceus*, con el objetivo de restringir el crecimiento de bacterias y hongos, especialmente *Fusarium* (Laitila, 2007). También se realizan enjuagues sucesivos, aireación y movimiento de la masa de granos durante todo el período de inmersión como método para reducir la actividad microbiana e incrementar la germinación (Davies, 2006; Laitila, 2007). Gaber y Robert (1969) y Jansson (1960), reportaron que el uso de mezclas de antibióticos en el agua de germinación redujo la inhibición del efecto del exceso de agua en la germinación y consecuentemente la sensibilidad al agua. La presencia de microorganismos no solo estaría vinculada con la disponibilidad de agua u oxígeno al embrión, Yan et al. (2017) mencionaron que el microbioma asociado a las semillas produce fitohormonas (citoquininas, auxinas, ácido indol acético) que pueden jugar un papel importante en la germinación.

RELACION DE LA SENSIBILIDAD AL AGUA CON EL VIGOR DEL GRANO

El vigor es una característica importante de la calidad del grano que determina que durante el malteo la germinación sea rápida y uniforme. En la última etapa del desarrollo del grano o madurez tardía, el desarrollo del vigor involucra algunas sustancias resistentes al estrés, que incluyen proteínas LEA, oligosacáridos y ácido abscísico.

Varios procesos ocurren durante la germinación de los granos, tales como: la imbibición y la reactivación del metabolismo, la rotura del tegumento, la emisión de la radícula y el crecimiento de las plántulas. La etapa inicial implica la absorción de agua, mientras que las siguientes etapas dependen de la movilización de las reservas de la semilla (Prisco *et al.*, 1981). En el proceso de imbibición, los solutos citoplasmáticos se liberan en una intensidad proporcional al estado de desorganización de las membranas. Las semillas más deterioradas o dañadas liberan mayores cantidades de exudados (Carvalho *et al.*, 2009).

Hosnedl y Honsová (2002), mencionaron que el vigor es una característica que depende del genotipo y del ambiente de producción del grano. Señalan que los granos con

mayor deterioro y reducido vigor son más sensibles a la deficiencia de oxígeno, y por lo tanto presentan más sensibilidad al agua. *Glycine max* es por excelencia la especie donde se conducen numerosos trabajos de investigación que estudian el efecto de las condiciones ambientales durante el desarrollo de la semilla en el vigor. Tekrony *et al.* (1980) y Gibson y Mullen (1996), reportaron que la viabilidad y el vigor de las semillas de soja se redujeron cuando las semillas se desarrollaron y maduraron en condiciones ambientales desfavorables como alta temperatura, elevadas precipitaciones y alta humedad relativa.

En este trabajo avanzaremos en el conocimiento de la relación entre la temperatura media y precipitaciones acumuladas durante el llenado de grano con la dormición y sensibilidad al agua. El conocimiento generado en el presente proyecto de investigación incentivará el comienzo de futuros trabajos orientados a caracterizar los cultivares comerciales actualmente en uso en Uruguay, respecto a su dormición y sensibilidad al agua. Al mismo tiempo conocer los mecanismos que operan en la determinación de la sensibilidad al agua brindará información para la toma de decisiones sobre el inicio del proceso de malteo de granos de cebada.

HIPÓTESIS

Las hipótesis de este estudio son:

a) el incremento de la temperatura y la disminución de la precipitación desde antes a madurez fisiológica y en el último tercio del período del llenado de grano, reducen de diferente forma la dormición a cosecha y la sensibilidad al agua de los granos de tres cultivares de cebada;

b) la sensibilidad al agua se estima a través de la evaluación de la germinación de las semillas inmediatamente posterior a su cosecha.

OBJETIVO GENERAL

Los objetivos de este trabajo fueron analizar el efecto de la temperatura media y las precipitaciones acumuladas durante y en el último tercio del llenado de grano, sobre la dormición y la sensibilidad al agua y la relación entre ellas, en tres cultivares de cebada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conocer la relación entre la temperatura media y la precipitación acumulada desde antesis a madurez fisiológica y en el último tercio del llenado de grano, con la germinación a cosecha en los cultivares INIA Ceibo, INIA Guaviyú y Maltería Pampa.

2. Estimar la relación entre la temperatura media y la precipitación acumulada desde antesis a madurez fisiológica y en el último tercio del llenado de grano, con la germinación en exceso de agua a los 100 días pos-cosecha en los cultivares INIA Ceibo, INIA Guaviyú y Maltería Pampa.

3. Establecer la relación entre la germinación a cosecha y la germinación en exceso de agua a los 100 días pos-cosecha en los cultivares INIA Ceibo, INIA Guaviyú y Maltería Pampa

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Se seleccionaron tres cultivares de cebada cervecera con diferentes ciclos de maduración y sensibilidad al agua: INIA Ceibo de ciclo largo (IC), cultivar caracterizado por su mayor sensibilidad al agua, INIA Guaviyú de ciclo corto (IG) y Maltería Pampa de ciclo largo (MP), ambos de sensibilidad al agua menores con relación a IC para los años según la evaluación previa efectuada en los años 2007 y 2008 por Suburu *et al.* (2007; 2008) (Tabla 1).

Tabla 1. Sensibilidad al agua (%), para tres cultivares de cebada según, localidad y fecha de siembra para los años 2007 y 2008.

Año	Localidad	Fecha de siembra	IC	IG	MP
2007	LE	Junio	63	8	70
	LE	Julio	62	5	18
	Paysandú	Julio	59	19	–
	Young	Junio	51	14	–
2008	LE	Junio	30	6	20
	LE	Julio	2	1	2
	Ombúes	Julio	11	0	3
	Paysandú	Julio	20	2	2
	Dolores	Junio	32	–	13

La Estanzuela (LE), INIA Ceibo (IC), INIA Guaviyú (IG) y MP1010 (MP). Fuente: Suburú *et al.*, 2007; 2008.

UBICACIÓN

Los tres cultivares fueron sembrados en el campo experimental de INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay (57° 41' O, 34° 20' S), en cuatro fechas de siembra durante el año 2009 (26 de mayo, 25 de junio, 14 de julio y 8 de agosto) y dos fechas de siembra durante el año 2011 (31 de mayo y 15 de agosto).

DISEÑO EXPERIMENTAL Y MANEJO DEL CULTIVO

Los experimentos se instalaron con un diseño de parcelas en bloques completos al azar con tres repeticiones en 2009 y cuatro repeticiones en el 2011, la siembra se realizó con sembradora autopropulsada de siembra directa de 6 surcos a 15 cm entre surcos y con una población de 250 semillas viables por m².

La fertilización se realizó de acuerdo a análisis de suelo de fósforo y nitrógeno previo a la siembra. La refertilización se realizó de acuerdo a análisis de NO₃ a mitad de macollaje y nitrógeno en planta a fin de macollaje con 30 y 35 kg N/ha respectivamente. El control de malezas se realizó a mitad de macollaje con Glean (20 gr/ha) + Hussar (90 gr/ha) + Agral 90 (200 cc/ha).

DURACIÓN DEL LLENADO DE GRANO

Se registraron datos de la temperatura media diaria del aire (°C) y la precipitación acumulada (mm) desde anthesis a madurez fisiológica para cada tratamiento. Los valores fueron obtenidos de la estación meteorológica de INIA La Estanzuela ubicada a 1000 m del experimento. El tiempo térmico (TT) acumulado durante el período de llenado de grano, fue

calculado como la suma de los valores de temperatura media diaria del aire (T_{md}) por encima de una temperatura base (T_b) de 5,5 °C. (Eq. [1] Pararajasingham y Hunt, 1991):

$$TT_{A-MF} = \sum_{d=A}^{MF} (T_{md} - T_b) \quad (1)$$

dónde d es un día en el intervalo de tiempo comprendido entre antesis (A) y madurez fisiológica (MF). El tiempo térmico acumulado se evaluó entre la antesis y la madurez fisiológica. Para determinar la temperatura y la precipitación acumulada en el último tercio (UT), el TT se dividió en tres intervalos desde la antesis a la madurez fisiológica con iguales acumulaciones de tiempo térmico. Los valores de T_{md} fueron obtenidos de la estación meteorológica de INIA La Estanzuela.

OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Al momento de antesis (Zadoks 49, aristas visibles por encima de la hoja bandera) y cuando el 50% de las plantas de cada parcela se encontraban en dicho estado, se identificaron con cintas de color 350 espigas provenientes de tallos principales (Rodríguez *et al.*, 2001). Cuando las espigas llegaron a madurez fisiológica (pérdida del 100% del color verde de las glumas y el pedúnculo) fueron cosechadas y trilladas manualmente. Se seleccionaron los granos del tercio central de las espigas, conformándose una muestra compuesta para cada tratamiento (Rodríguez *et al.*, 2001).

EVALUACIÓN DE DORMICION

A los 12 días posteriores a madurez fisiológica se estudió la dormición de los granos mediante el comportamiento germinativo (Rodríguez *et al.*, 2001). Para cada parcela, dos submuestras de 100 granos fueron colocados a germinar en cajas de Petri de 9 cm de diámetro, sobre dos hojas de papel de filtro Whatman N°1 y 4ml de agua destilada a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ y 90% de humedad relativa en oscuridad durante 7 días (Castro *et al.*, 2010). La germinación fue evaluada en función de los granos que presentaron protrusión de radícula aproximadamente de 2 a 3 mm (Benech-Arnold *et al.*, 2006).

EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD AL AGUA

Las muestras fueron almacenadas en sacos de lienzo a temperatura ambiente ($20-22^{\circ}\text{C}$) en las instalaciones del Laboratorio de Análisis de semillas de INIA La Estanzuela por un período de 100 días, momento en el cual se determinó la sensibilidad al agua a través del test de Pollock (1962). Para cada repetición se tomó una muestra de 500 semillas, divididas en 5 repeticiones de 100 granos cada una. Al igual que en el ensayo de dormición, se colocaron en cajas de Petri con 2 hojas de papel filtro N°1 de 90 mm de diámetro. A dos de las submuestras del ensayo anterior se les agregaron 4 ml de agua, y a los tres restantes, 8 ml de agua. Posteriormente se colocaron las placas en gabinete de germinación con temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ y 90% de humedad relativa en oscuridad. Se realizaron recuentos de semillas con protrusión de radícula al segundo, tercer y cuarto día. A partir de ello se estimó el valor de sensibilidad al agua (%) como la diferencia entre el promedio de las semillas germinadas en el test de 4 ml y el obtenido en el de 8 ml (ambos a las 72 horas).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de la varianza para evaluar el efecto del cultivar y ambiente (definido como la combinación de mes y año de siembra), en la germinación, la sensibilidad

al agua y su interacción. Para la comparación de medias se utilizó la prueba LSD de Fisher ($\alpha=0.05$). Se calcularon coeficiente de correlación lineal de Pearson entre las variables climáticas Temperatura media desde antesis y madurez fisiológica (T_{A-MF}), Precipitación acumulada desde antesis y madurez fisiológica (P_{A-MF}), Temperatura media en el último tercio del llenado de grano (T_{UT}), Precipitación acumulada en el último tercio del llenado de grano (P_{UT}), y entre estas con las variables germinación y sensibilidad al agua. Se seleccionaron las variables ambientales que presentaron mayor correlación con germinación y sensibilidad al agua, para ajustar un modelo de regresión lineal por cultivar, donde la variable respuesta fueron germinación y sensibilidad y las regresoras las climáticas seleccionadas. Finalmente se ajustó un modelo regresión lineal para estimar sensibilidad al agua en función de la germinación en cada cultivar. Los datos fueron analizados con el software InfoStat/P (Di Rienzo *et al.*, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA

En relación con la caracterización climática de los años 2009 y 2011 para las diferentes fechas de siembra, no se registraron diferencias en la temperatura promedio entre experimentos (15°C), excepto el mes de agosto de 2009 que fue comparativamente más cálido (13 °C) que el de 2011 (10 °C) (Figura 1). Las precipitaciones promedio desde julio a diciembre de 2009 (137 mm) triplicaron las registradas en 2011 (47 mm) (Figura 2).

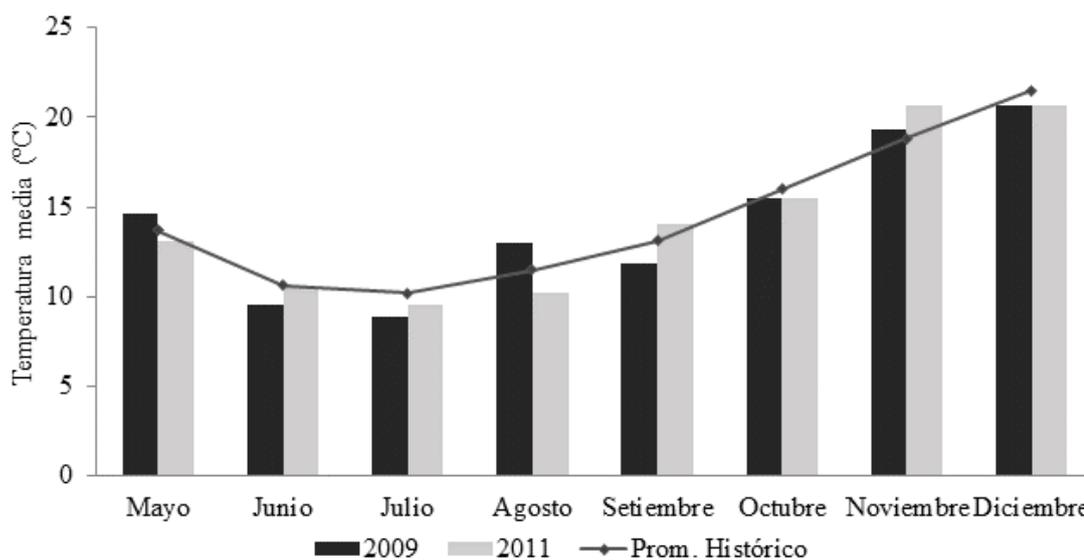


Figura 1. Temperaturas (°C) promedio históricas y temperatura media registradas durante el período mayo a diciembre de 2009 y 2011 en la Localidad de La Estanzuela. Fuente: INIA GRAS (serie 1965-2011)

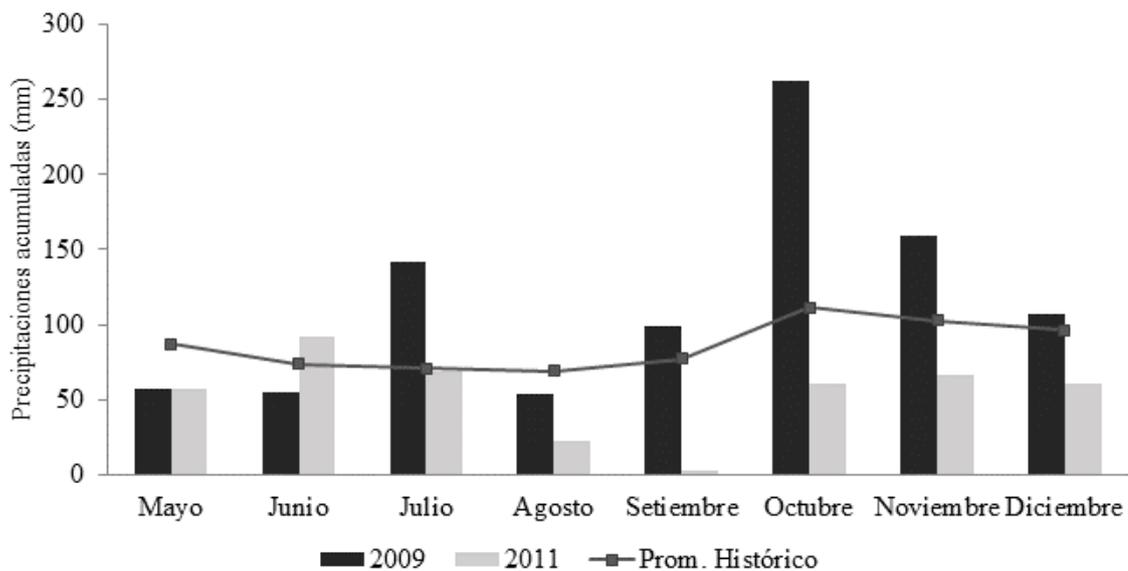


Figura 2. Precipitaciones (mm) promedio históricas y precipitación acumulada mensual durante el período mayo a diciembre de 2009 y 2011 en la Localidad de La Estanzuela. Fuente: INIA GRAS (serie 1965-2011)

En los dos años de experimentos las T_{A-MF} y T_{UT} , fueron mayores con el atraso en la fecha de siembra. La diferencia de estos valores entre cultivares se debió a diferencias entre ellos en el momento de antesis. En el año 2009, para el cv. IC y el cv. MP, las fechas de siembra de agosto registraron un incremento de la T_{A-MF} de 3 a 4 °C con respecto a las de mayo, mientras que para el cv. IG este incremento fue de 6 °C (Tabla 2).

En el año 2011 la T_{A-MF} se incrementó en 4 °C para el cv. IC y el cv. MP y 3 °C para el cv. IG, entre la fecha de siembra de mayo y agosto respectivamente. Con respecto a las condiciones en el último tercio, en el año 2009, para los cv. IC y MP las fechas de siembra de mayo registraron similar T_{UT} que las de agosto, mientras que para el cv. IG existieron 4 °C más en este periodo en la siembra de agosto respecto a la de mayo. En el año 2011 la T_{UT} fue 4 a 5 °C superior para los cv. IC e IG y 3 °C para el cv. MP por atrasos en la fecha de siembra.

Tabla 2. Fecha de siembra, temperatura media y precipitación acumulada, desde antesis a madurez fisiológica y en el último tercio del período de llenado de granos, para tres cultivares de cebada sembrados en cuatro fechas en 2009 y dos fechas en 2011.

Cultivar	Año	A ⁽¹⁾	MF	Siembra	T _{A-MF}	T _{UT}	P _{A-MF}	P _{UT}
		fecha		Mes	°C		mm	
INIA Ceibo	2009	25.set.	4.nov.	May	15	19	371	108
	2009	8.oct.	12.nov.	Jun	17	17	330	20
	2009	23.oct.	21.nov.	Jul	18	20	125	0
	2009	30.oct.	27.nov.	Ago	19	21	110	25
INIA Guaviyú	2009	18.set.	27.oct.	May	12	16	229	30
	2009	1.oct.	1.nov.	Jun	16	18	346	105
	2009	14.oct.	11.nov.	Jul	17	17	287	20
	2009	23.oct.	17.nov.	Ago	18	20	152	48
Maltería Pampa	2009	30.set.	6.nov.	May	16	20	349	108
	2009	12.oct.	14.nov.	Jun	17	18	287	17
	2009	25.oct.	23.nov.	Jul	19	20	125	0
	2009	1.nov.	29.nov.	Ago	19	21	48	28
INIA Ceibo	2011	7.oct.	10.nov.	May	17	20	80	19
	2011	5.nov.	29.nov.	Ago	21	24	66	7
INIA Guaviyú	2011	27.set.	30.oct.	May	16	16	61	3
	2011	27.oct.	20.nov.	Ago	19	21	60	39
Maltería Pampa	2011	10.oct.	12.nov.	May	17	19	41	19
	2011	7.nov.	2.dic.	Ago	21	22	66	7

T_{A-MF} (°C) (temperatura media desde antesis a madurez fisiológica), P_{A-MF} (mm) (precipitación acumulada desde antesis a madurez fisiológica), T_{UT} (°C) (temperatura media en el último tercio del llenado de grano), P_{UT} (mm) (precipitación acumulada en el último tercio del llenado de grano), ⁽¹⁾ A, antesis; MF, madurez fisiológica.

Las P_{A-MF} promedio en 2009 fueron mayores (230 mm) a las de 2011 (62 mm) (Tabla 2). En 2009, para los tres cultivares, las fechas de siembra de mayo registraron en promedio mayores P_{A-MF} (316 mm) con respecto a las de agosto (103 mm). En el año 2011 las fechas de siembra de mayo registraron en promedio similares P_{A-MF} (61 mm) que las de agosto (64 mm). Con relación a las condiciones en el último tercio, en el año 2009 para el cv. IC y el cv. MP las fechas de siembra de mayo registraron en promedio mayores P_{UT} (108 mm) con respecto agosto (27 mm) mientras que para el cv. IG fueron similares (30-48 mm). En el año 2011 las fechas de siembra de mayo registraron en promedio similares P_{UT} (14 mm) que las de agosto (18 mm).

GERMINACIÓN

El nivel de dormición posterior a madurez fisiológica dependió de la interacción entre cultivar y ambiente (combinación fecha de siembra y año) ($p < 0,0001$) (Figura 3). En 2009, retrasos en la fecha de siembra incrementaron la germinación para los cvs. IC y MP, mientras que para el cv. IG la germinación se incrementó con siembras de junio respecto a mayo y luego disminuyó, aunque permaneció mayor que los valores de las siembras de mayo.

En 2011 la germinación se incrementó con el atraso en la fecha de siembra para los tres cultivares, debido a que en este año solo se efectuaron dos épocas de siembra, el comportamiento diferente que mostró el cv. IG en el año 2009 no pudo ser evaluado. Estos resultados fueron similares a los reportados por Benitez (1999) y Castro *et al.* (2010) quienes detectaron que el nivel de dormición adquirido por cada lote de semilla es regulado por el genotipo y las condiciones de ambiente en que se forman las semillas.

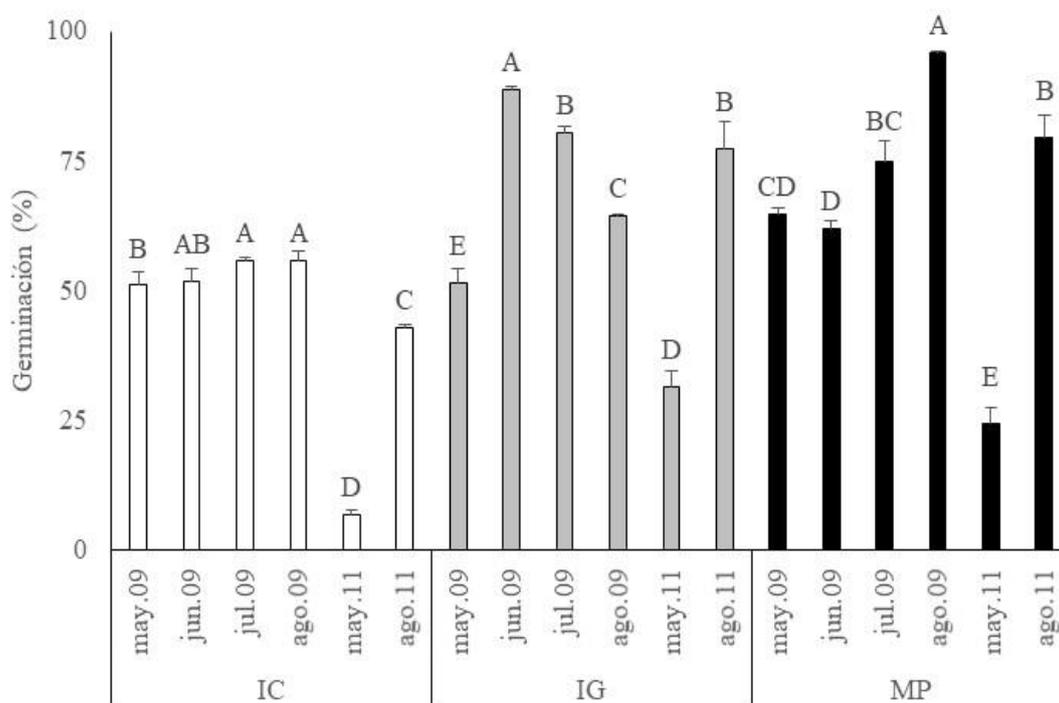


Figura 3. Germinación de los granos de cebada a los 12 días pos-madurez fisiológica para los cultivares, INIA Ceibo (IC), INIA Guaviyú (IG) y MP1010 (MP), en cuatro fechas de siembra en 2009 y dos fechas de siembra en 2011. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) dentro de cada cultivar. Las barras verticales representan el error estándar.

SENSIBILIDAD AL AGUA

Al igual que para el nivel de dormición, la sensibilidad al agua mostró una interacción significativa ($p < 0,0001$) entre el cultivar y ambiente, resultados similares fueron reportados por Castro *et al.* (2010) quienes mencionaron que al igual que la dormición las condiciones del ambiente durante el llenado de grano y el genotipo condicionan el valor de sensibilidad al agua (Figura 4). Las siembras más tardías en el año 2009 redujeron la sensibilidad al agua para los tres cultivares, aunque en el año 2011 este efecto se registró sólo para el cv. MP.

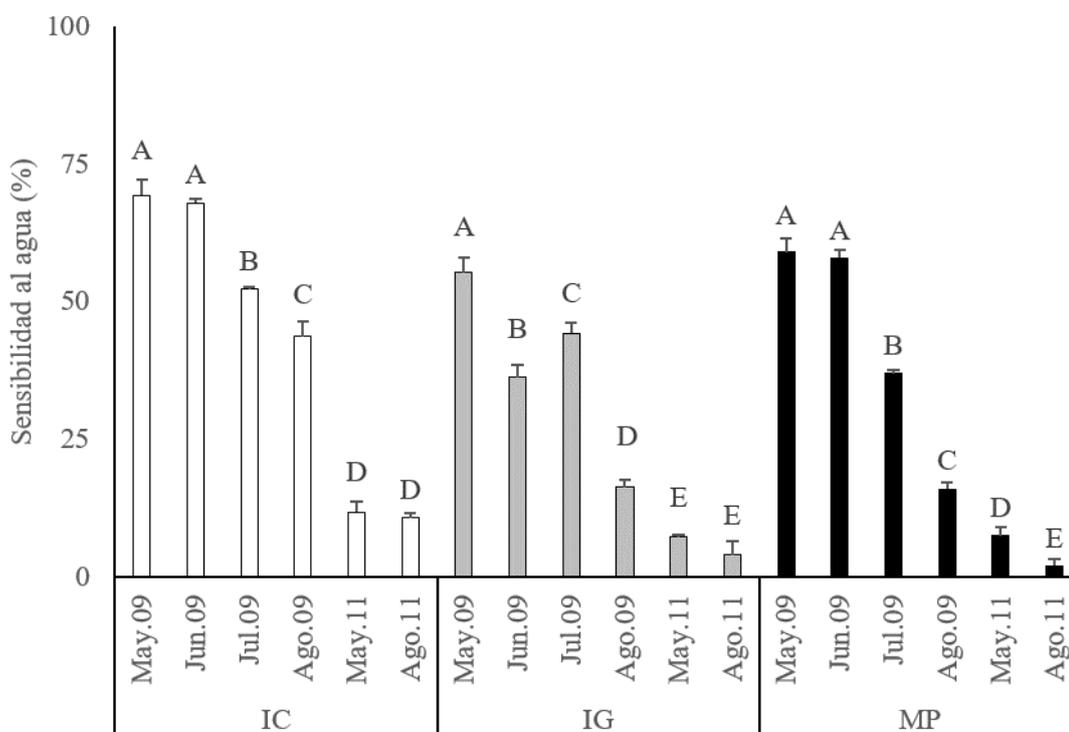


Figura 4. Sensibilidad al agua (%) de los granos de cebada a los 100 días pos-madurez fisiológica para los cultivares INIA Ceibo (IC), INIA Guaviyú (IG) y MP1010 (MP) en cuatro fechas de siembra en 2009 y dos fechas de siembra en 2011. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) dentro de cada cultivar. Las barras verticales representan el error estándar

Las T_{A-MF} con las T_{UT} y las P_{A-MF} con las P_{UT} presentaron correlaciones positivas y altas ($r^2=0,84$ y $r^2=0,68$, respectivamente). Para ajustar el modelo lineal por cultivar se eligieron las variables ambientales T_{A-MF} y P_{A-MF} , que presentaron mayor correlación con la germinación y sensibilidad al agua (Tabla 3). La T_{UT} no fue significativa ($p \leq 0,05$) sobre la

germinación, a diferencia de los trabajos de Castro *et al.* (2010) y Rodríguez *et al.* (2001) quienes reportaron una estrecha relación entre T_{UT} y el nivel de dormición de los granos. Esto podría deberse a una menor variabilidad de la T_{UT} en relación con la T_{A-MF} para los diferentes cvs y fechas de siembra. Por otra parte, similarmente a lo reportado por Gualano (2004) para el cv. B1215, para los cvs. evaluados en este estudio la sensibilidad a la temperatura no se localizó dentro de una etapa del período de llenado de grano. En este sentido, la aplicación de un modelo general para estimar la dormición que incluya el efecto de la T_{A-MF} y P_{A-MF} , la determinación de la antesis y el momento de madurez fisiológica de los genotipos simplifica y facilita su aplicación.

Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables T_{A-MF} (°C), P_{A-MF} (mm), T_{UT} (°C) y P_{UT} (mm), y valores de germinación y sensibilidad al agua (n=60).

Variable	T_{A-MF} (°C) ⁽¹⁾	P_{A-MF} (mm)	T_{UT} (mm)	P_{UT} (mm)
Germinación	0,25**	0,25**	0,12ns	0,23**
Sensibilidad al agua	-0,51***	0,84***	-0,42***	0,40***

***significativo al $p \leq 0,001$, ** significativo al $p \leq 0,05$, ns no significativo con $p > 0,05$. (1) T_{A-MF} (°C), temperatura media desde antesis a madurez fisiológica; P_{A-MF} (mm) precipitación acumulada desde antesis a madurez fisiológica, T_{UT} (°C), temperatura media en el último tercio de llenado de grano, y P_{UT} (mm) precipitación acumulada en el último tercio de llenado de grano.

El modelo de regresión lineal mostró un efecto positivo y significativo de T_{A-MF} y P_{A-MF} sobre la germinación en los tres cultivares evaluados. (Tabla 4). Incrementos de la T_{A-MF} en el rango de 15 a 21 °C para el cv. IC, 12 a 19 °C para el cv. IG y 16 a 21 °C para el cv. MP, se asociaron con una mayor germinación (Tabla 2) resultado de un menor nivel de dormición, en coincidencia con lo reportado por Benítez (1999). Cuando la T_{A-MF} aumenta 1°C la germinación se incrementa en un 8, 7 y 14% en los cvs. IC, IG y MP, respectivamente si la P_{A-MF} se mantiene constante (Tabla 4).

En cuanto a la relación con P_{A-MF} , Aspinall (1965) y Biddulp *et al.* (2007), también observaron que el déficit hídrico durante el llenado de grano redujo la germinación de las semillas de cebada y trigo, respectivamente. Cuando la P_{A-MF} aumenta en 1 mm la germinación se incrementa en un 0,16, 0,15 y 14% en los cvs. IC, IG y MP, respectivamente si la T_{A-MF} se mantiene constante (Tabla 4). Contrariamente a lo aquí observado, Gualano (2004) detectó que la falta de agua durante el llenado de grano incrementó la germinación si

la temperatura durante la ventana de sensibilidad (ubicada en el último tercio del llenado de grano) fue menor a 20 °C, de lo contrario el nivel de dormición dependió principalmente de la temperatura.

Tabla 4. Valores de R^2 y parámetros de los modelos lineales; ordenada en el origen (A) y los coeficientes de regresión de las variables T_{A-MF} (°C) y P_{A-MF} (mm), para las estimaciones de los valores de germinación y sensibilidad al agua para cada cultivar (n=20).

Variable	Cultivar	R^2	A	T_{A-MF} (°C) ⁽¹⁾	P_{A-MF} (mm)	SD
Germinación	IC ⁽²⁾	0,55	-131,03	8,16**	0,16***	3,6
	IG	0,74	-72,32	6,78***	0,15***	3,3
	MP	0,56	-205,95	13,89**	0,13**	4,1
Sensibilidad al agua	IC	0,74	1,90 ns	0,39 ns	0,18***	3,7
	IG	0,86	7,16 ***	-4,13***	0,12***	2,8
	MP	0,88	28,81 ns	-1,40 ns	0,17***	2,9

***significativo al $p \leq 0,001$, ** significativo al $p \leq 0,01$, ns no significativo con $p > 0,05$. (1) T_{A-MF} (°C), temperatura media desde antesis a madurez fisiológica; P_{A-MF} (mm) precipitación acumulada desde antesis a madurez fisiológica y SD desvío estándar. (2) IC INIA Ceibo, IG INIA Guaviyú, MP Maltería Pampa.

Para la sensibilidad al agua el modelo de regresión lineal mostró que las precipitaciones durante el llenado del grano favorecieron la ocurrencia de valores más altos de sensibilidad al agua en los tres cultivares. Cuando la P_{A-MF} aumenta en 1 mm la sensibilidad al agua se incrementa en un 0,18, 0,12 y 0,17% en los cvs. IC, IG y MP, respectivamente si la T_{A-MF} se mantiene constante (Tabla 4). Esto podría deberse a una mayor presencia de microorganismos en los granos, según Gaber y Roberts, 1969; Briggs y McGuinness, 1993; Noots *et al.*, 1999; Thomas y Usher, 2001; en condiciones de exceso de agua los microorganismos se multiplican rápidamente, limitan la respiración del embrión y en consecuencia inducen sensibilidad al agua. También podría estar explicado por un menor vigor de las semillas que se desarrollaron y maduraron con elevadas precipitaciones (Tekrony *et al.*, 1980 y Gibson y Mullen, 1996). En este sentido, Hosnedl y Honsová (2002), señalaron que los granos con menor vigor son mas sensibles a la deficiencia de oxígeno y por lo tanto presentan más sensibilidad al agua.

En cuanto a la T_{A-MF} los resultados mostraron un efecto significativo solo para el cv. IG. La sensibilidad al agua de este cultivar se incrementa en un 4,13%, por descenso de la T_{A-MF} de 1°C, si la P_{A-MF} se mantiene constante (Tabla 4), lo que concuerda con lo observado por Jansson (1962), quien mencionó que la sensibilidad al agua es una forma de dormición que aparece cuando los granos maduran bajo clima húmedo y temperaturas frías. Para los

cvs. IC y MP la sensibilidad al agua dependió de las P_{A-MF} y no vario por efecto de la T_{A-MF} en coincidencia con Woonton *et al.* (2005) quienes observaron un comportamiento diferente de los genotipos en respuesta a los ambientes durante el crecimiento de los granos.

En el presente trabajo no se encontraron asociaciones entre las variables dormición y sensibilidad al agua, ambas fueron afectadas por el nivel de precipitaciones durante el llenado de grano y por la temperatura de dicho período a excepción del nivel de sensibilidad al agua de los cvs. IC y MP. Estos resultados fueron similares a los reportados por Castro *et al.* (2010) que además explicaron que si bien ambas variables tienen una base genética común son muy sensibles a las condiciones del ambiente de maduración del grano. En este sentido, Woonton *et al.* (2005) señalaron que cuando los granos presentan microorganismos, la dormición durante el almacenamiento disminuye, sin embargo, la sensibilidad al agua puede permanecer elevada.

Los resultados obtenidos junto con la expansión de modelos hacia otros cultivares comerciales que incluyan otras variables como calidad sanitaria de los granos y vigor, podrán estimar la dormición y sensibilidad al agua en forma anticipada. En caso de lluvias abundantes durante el llenado de grano permitirá adoptar medidas de manejo como el incremento de la aireación de los granos durante el proceso de malteo y así reducir la sensibilidad al agua.

CONCLUSIONES

Con temperaturas medias altas durante el llenado de grano es esperable menores valores de dormición; sin embargo, su efecto en la disminución de la sensibilidad al agua dependerá del cultivar. Incremento de las precipitaciones durante el llenado de grano provocarían una disminución de la dormición, pero un aumento de la sensibilidad al agua, y consecuentemente, retrasos en el inicio del proceso de malteo. La germinación de las semillas al momento de cosecha no predice la sensibilidad al agua.

BIBLIOGRAFÍA

- Angelino S. and Bol J. 1990. Impact of microflora during storage and malting on malt properties. Raw materials and sweet wort production. In Proceeding of the 4th Jean De Clerck Chair Conference, Leuven, Belgium. pp. 1–14.
- Arias G. 1991. Calidad industrial de la Cebada Cervecera. Serie Técnica INIA 18 Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Montevideo, Uruguay. 54p
- Aspinall D. (1966). Effects of the soil moisture stress on the growth of barley. III. Germination of grain from plants subjected to water stress. Journal of the Institute of Brewing 72: 174-176.
- Benech-Arnold R., Giallorenzia C., Frankal J. and Rodriguez V. 1999. Termination of hull-imposed dormancy in developing barley grains is correlated with changes in embryonic ABA levels and sensitivity. Seed Science Research 9: 49-27
- Benech-Arnold R. 2001. Bases of pre-harvest sprouting resistance in barley: Physiology, molecular biology and environmental control of dormancy in the barley grain. In: Barley Science. Recent advances from molecular biology to agronomy of yield and quality. Slafer, G.A, Molina-Cano, J.L, Savin, R, Araus, J.L. and Romagosa, I., (eds.). Food Product Press. New York, United State, pp. 481-502.
- Benech-Arnold R. 2004. Inception, Maintenance, and termination of dormancy in grain crops: Physiology, genetics, and environmental control. In: Handbook of Seed Physiology: applications to agriculture. Benech-Arnold, R. and Sánchez, R (eds.), Food Product Press, New York, United State, pp. 169-198.
- Benech-Arnold R., Gualano N., Leymarie J., Côme D. and Corbineau F. 2006. Hypoxia interferes with ABA metabolism and increases ABA sensitivity in embryos of dormant barley grains. Journal of Experimental Botany 57(6): 1423-1430.
- Benítez A. 1999. Dormancia en semillas de cebada cervecera. Cangüé 16: 25-31.
- Bewley J. and Black M. 1994. Dormancy and the control of germination. In: Seeds physiology of development and germination. Bewley, J.D. and Black, M (eds.), Plenum Press, New York, United State, pp. 199-267.
- Biddulph T., Plummer J., Setter T. and Mares D. (2007). Influence of high temperature and terminal moisture stress on dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). Field Crops Research 103(2): 139-153.
- Bradford K., Benech-Arnold R., Côme D. and Corbineau F. 2008. Quantifying the sensitivity of barley seed germination to oxygen, abscisic acid, and gibberellin using a population-based threshold model. Journal of Experimental Botany 59(2): 335-347.

- Brady, S.M. and McCourt, P. 2003. Hormone Cross-Talk in Seed Dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation* 22: 25-31
- Briggs D. 1978. *Barley*. Chapman and Hall Publishing Company, London, England, 612 pp.
- Briggs D. and McGuinness G. 1993. Microbes and barley grains. *Journal of the Institute of Brewing* 99(3): 249-255.
- Carvalho L., Sedyama, C.; Dias D., Reis M. y Moreira M. 2009. Teste rápido de condutividade elétrica e correlação com outros testes de vigor. *Revista Brasileira de Sementes* 31: 239
- Castro A., Benítez A., Hayes P., Viega L. and Wright L. 2010. Coincident quantitative trait loci effects for dormancy, water sensitivity and malting quality traits in the BCD47 × Baronesse barley mapping population. *Crop and Pasture Science* 61: 691-699
- Chapman B. 2011. Economic impact of pre-harvest sprouting, seed dormancy and germination from a farmer perspective. The 12th international Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals, Alberta, Canadá, pp. 11.
- Côme D. 1982. Germination. In: *Croissans et developpment. Physiologie Vegetale, II*. Mazliak, P (Ed.), Hermann, Paris, pp. 129-226.
- Copeland L and McDonald M. 1995. *Principles of seed science and technology*. Chapman and Hall. Publishing Company. New York, United State, 409 pp.
- Corbineau F. and Côme D. 1995. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environment. In: *Seed development and germination*. Kigel J and Galili G (eds.), New York, United State, pp. 397-424
- Crabb D. and Kirsop B. H. 1969. Water sensitivity in barley. I. Respiration studies and the influence of oxygen availability. *Journal of the Institute of Brewing* 75: 254-259
- Cutler S., Rodriguez P., Finkelstein, R. and Abrams S. 2010. Abscisic Acid: emergence of a core signaling network. *Annual Review of Plant Biology* 61: 651-679.
- Davies N. 2006. Malt and malt products. En: *Brewing, New technologies*, Bamforth C. (ed.), Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge, United Kingdom, pp. 68-101.
- Del Fueyo P., Sánchez R. y Benech-Arnold R. 2003. Seed longevity in two sorghum varieties with contrasting dormancy level prior to harvest. *Seed Science Technology* 31: 639-650
- Derx M. and Karssen C. 1993. Effects of light and temperature on seed dormancy and gibberellin-stimulated germination in *Arabidopsis thaliana* studies with

gibberellin-deficient and gibberellin-insensitive mutants. *Physiology Plantarum* 89: 360-368

- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat. FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Publicado en internet, Disponible en <http://www.infostat.com.ar>. Activo marzo 2020
- Doran P. and Briggs D. 1993. Microbes and grain germination. *Journal of the Institute of Brewing* 99(2): 165-170.
- Douglas P. and Flannigan B. 1988. Microbiological evaluation of barley malt production. *Journal of the Institute of Brewing* 94: 85-88
- Essery R., Kirsop B. and Pollock J. 1954. Studies in barley and malt. I. Effects of water on germination tests. *Journal of the Institute of Brewing* 60: 473-481.
- Finkelstein R., Gampala S. and Rock C. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* 14(1): 15-45
- Finkelstein R. 2004. The role of hormones during seed development and germination. In *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Davies, P.J (ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 513- 537
- Finch-Savage W. and Leubner-Metzger G. 2006. Seed Dormancy and the Control of Germination. *New Phytologist* 171(3): 501-523
- Flannigan B. 1996. The microflora of barley and malt. In: *Brewing Microbiology*, Priest F and Campbell I (eds.), Chapman and Hall, London. pp. 83-125
- Flannigan B. 2003. The microbiota of barley and malt. In: *Brewing Microbiology*, Priest F. and Campbell I, (eds.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, United State, pp. 113-180.
- Gaber S. and Roberts E. 1969. Water sensitivity in barley seed II. Association with microorganism activity. *Journal of the Institute of Brewing* 75: 303-314.
- Gianinetti A. and Vernieri P. 2007. On the role of abscisic acid in seed dormancy of red rice. *Journal of Experimental Botany* 58(12): 3449-3462.
- Gibson L. and Mullen R. 1996. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. *Crop Science* 36: 1615-1619
- Goggin D., Steadman K., Emery R., Farrow S., Benech-Arnold R. and Powles S. 2009. ABA inhibits germination but not dormancy release in mature imbibed seeds of *Lolium rigidum* Gaud. *Journal of Experimental Botany* 60(12): 3387-3396

- Gómez B. 2013. De la cerveza a la malta y de la malta al campo. Jornada Técnica de Cebada Cervecera. Publicado en internet, Disponible en <https://studylib.es/doc/4876821/de-la-cerveza-a-la-malta-y-de-la-malta-al-campo>. Activo marzo 2020.
- Gong X., Li C., Zhou M., Bonnardeaux Y. and Yan G. 2014. Seed dormancy in barley is dictated by genetics, environments and their interactions. *Euphytica*, 197(3): 355-368.
- Gualano N. 2004. Brotado precosecha y pre-germinado en cebada cervecera: Predicción de la susceptibilidad del cultivo basada en el ambiente y manejo poscosecha de los granos dañados. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, 141p.
- Gutierrez L., Van Wuytswinkel O., Castelain M. and Bellini C. 2007. Combined networks regulating seed maturation. *Trends Plant Science* 12: 294-300.
- Gutterman Y., Corbineau F. and Côme D. 1996. Dormancy of *Hordeum spontaneum* caryopses from a population on the Negev Desert Highlands. *Journal of Arid Environments* 33: 337-345.
- Haikara A., Mäkinen V. and Hakulinen R. 1977. On the microflora of barley after harvesting, during storage and in malting. In: *Proceeding of the European brewing conversation*, Amsterdam, The Netherlands, pp. 35-46.
- Harvey B. and Rosnagel B. 1983. Sprouting resistance in barley. *International symposium on preharvest sprouting in cereals*, Winnipeg, Canada, pp. 239-243.
- Hay J. 1962. Experiments on the mechanism of induced dormancy in wild oats, *Avena fatua* L. *Canadian Journal of Botany* 40(1): 191-202.
- Helm J. 2011. R & D support for pre-harvest sprouting resistance and seed dormancy in a breeding program-how do we convince the funders that this is worth our time? *The 12th international symposium on pre-harvest sprouting in cereals*, Alberta, Canadá, pp. 9
- Hilhorst H. 1995. A Critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research* 5(2): 61-73.
- Hoang H., Sotta B., Gendreau E., Bailly C., Leymarie J and Corbineau F. 2012. Water content: a key factor of the induction of secondary dormancy in barley grains as related to ABA metabolism. *Physiologia Plantarum* 148(2): 284-296.
- Hoang H., Bailly C., Corbineau F. and Leymarie J. 2013. Induction of secondary dormancy by hypoxia in barley grains and its hormonal regulation. *Journal of experimental Botany* 64(7): 2017-2025

- Hosnedl V. and Honsová H. 2002. Barley seed sensitivity to water stress at germination stage. *Plant Soil and Environment* 48: 293-297
- Hough J. 1985. The biotechnology of malting and brewing. Baddiley J., Carey N.H., Davidson J.F., Hggins J. and Potter W.G (eds.), University Press, Cambridge, London, 168 pp.
- Ibarra S., Tognacca R., Dave A., Graham I., Sánchez R. and Botto J. 2016. Molecular mechanisms underlying the entrance in secondary dormancy of *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell and Environment* 39: 213-221.
- Jansson C., Kirsop B. and Pollock, J. 1959. Studies in barley and malt: XIII. Water-sensitivity as an intrinsic property of certain barleys. *Journal of the Institute of Brewing* 65: 165-168.
- Jansson G. 1960. Breaking of water-sensitivity in barley seeds by treatment with chemicals. *Arkiv For Kemi* 15(41): 439-450
- Jansson C. 1962. Studies on water sensitivity in barley seeds. *Svensk Kem. Tidskr* 74: 181-194.
- Karsen C., Brinkhorst-van der Swan D., Breekland A. and Koornneef M. 1983. Induction of dormancy during seed development by endogenous abscisic acid: studies on abscisic acid deficient genotypes of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Planta* 157(2): 158-165.
- Kelly L. and Briggs D. 1992. The influence of the grain microflora on the germinative physiology of barley. *Journal of the Institute of Brewing* 98(5): 395-400.
- Laitila A., Alakomi H.L., Raaska L., Mattila-Sandholm T. and Haikara, A. 2002. Antifungal activities of two *Lactobacillus plantarum* strains against *Fusarium* moulds in vitro and in malting of barley. *Journal of Applied Microbiology* 93: 566-576
- Laitila A. 2007. Microbes in the tailoring of barley malt properties. Tesis Ph.D. University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry, Finland. 107 pp. Publicado en internet, Disponible en <https://www.vtt.fi/inf/pdf/publications/2007/P645.pdf>. Activo marzo 2020.
- Lecat S; Corbineau F. and Come D. 1992. Effects of gibberellic acid on the germination of dormant oat (*Avena sativa*. L) seed has related to temperature, oxygen and energy metabolism. *Seed Science and Technology* 20: 241-433.
- Lenoir C., Corbineau F. and Côme D. 1986. Barley (*Hordeum vulgare*) seed dormancy as related to glumella characteristics. *Physiologia Plantarum* 68: 301-307
- Leslie J. and Summerell B. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Wiley and Sons, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 388 pp.

- Leymarie J., Robayo-Romero M., Gendreau E., Benech-Arnold R. and Corbineau F. 2008. Involvement of ABA in induction of secondary dormancy in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds. *Plant and Cell Physiology* 49: 1830-1838.
- Liu Y., Ye N., Liu R., Chen M. and Zhang J. 2010. H₂O₂ mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in Arabidopsis seed dormancy and germination. *Journal of Experimental Botany* 61: 2979-2990
- Matthews S. and Collins M. 1975. Laboratory measures of field emergence potential in barley. *Seed Science Technology* 3: 863-870
- Mendiondo, G. M., Leymarie, J., Farrant, J. M., Corbineau, F., & Benech-Arnold, R. L. (2010). Differential expression of abscisic acid metabolism and signalling genes induced by seed-covering structures or hypoxia in barley (*Hordeum vulgare* L.) grains. *Seed Science Research*, 20(2): 69.
- Millar A., Jacobsen J., Ross J., Helliwell C., Poole A., Scofield G., Reid J. and Gubler F. 2006. Seed dormancy and ABA metabolism in Arabidopsis and barley: the role of ABA 8'-hydroxylase. *Plant Journal* 45: 942-954
- Nambara E., Okamoto M., Tatematsu K., Yano R. and Seo M. 2010. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. *Seed Science Research* 20: 55-67
- Negbi M., Rushkin, E. and Koller D. 1966. Dynamic aspects of water relations in germination of *Hirschfeldia incana* seeds. *Plant Cell Physiology* 7: 363-376
- Nonogaki H, Chen F. and Bradford KJ. 2007. Mechanisms and genes involved in germination sensu stricto. In: Seed development, dormancy and germination. Bradford K.J. and Nonogaki H, (eds.), Blackwell Publishing, Oxford, U.K, pp. 264-304.
- Noots I., Delcour J. and Michiels C. 1999. From field barley to malt: detection and specification of microbial activity for quality aspects. *Critical Reviews in Microbiology* 25: 121-153.
- Olkku J., Kotaviita E., Salmenkallio M., Sweins H. and Home S. 2005. Connection between structure and quality of barley husk. *Journal of American Society of Brewing Chemist* 63(1): 17-22
- Pararajasingham, S. y Hunt, L. (1991). Wheat spike temperature in relation to base temperature for grain filling duration. *Canadian Journal of Plant Science* 71 (1): 63-69.
- Perry D. and Ellerton D. 1983. Studies on death of deteriorated barley seeds in soil. *Annual Annals of Applied Biology* 102: 183-191

- Petters H., Flannigan B. and Austin B. 1988. Quantitative and qualitative studies of the microflora of barley malt production. *Journal of Applied Bacteriology* 65: 279-297.
- Pitz W. 1990. Rapid and objective methods for the estimation of pre-germination and viability in Barley. *Journal of American Society of Brewing Chemist.* 49: 119-127.
- Pollock J. 1962. Barley and malt. In: *Biology Biochemistry, technology*, Cook A.H (ed.), Academic Press, London, England, pp. 302-399.
- Prisco J., Filho E., Gomes J. and Filho E. 1981. Effect of NaCl on Cotyledon starch mobilization during germination of *Vigna unguiculata* (L) Walp seeds *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo 4(1): 63-71
- Raz V., Bergervoet J. and Koornneef M. 2001. Sequential steps for developmental arrest in *Arabidopsis seeds*. *Development* 128: 243-252.
- Reiner L. and Loch V. 1976. Forecasting dormancy in barley: ten years' experience. *Cereal Research Communication* 4: 107-110
- Reuss R., Cassells J. and Green J. 2003. Malting barley storage, dormancy and processing quality. *Australian Postharvest Technical Conference*, Australia, pp. 44-48.
- Roberts E. 1969. Seed dormancy and oxidation processes. *Dormancy and survival*, Symposium of the society for experimental biology, Cambridge, United Kingdom 23: 161-192
- Rodríguez V., González M., Insausti P., Margineda J. and Benech-Arnold R. 2001. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in barley: a model based on temperature during grain filling. *Agronomy Journal* 93: 1071-1079.
- Romagosa I., Prada D., Moralejo M., Sopena A., Muñoz P., Casas A. and Molina-Cano, J. 2001. Dormancy, ABA content and sensitivity of a barley mutant to ABA application during seed development and after ripening. *Journal of Experimental Botany* 52(360): 1499-1506.
- Sawhney R. and Naylor J. 1980. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. Influence of temperature on germination behavior of nondormant families. *Canadian Journal of Botany* 58: 578-581
- Schmidt H. 1991. Cereal grain structure and the way which fungi colonize kernel cells. En: *Cereal grain. Mycotoxins, fungi, and quality in drying and storage*. Chelkowski, J. (ed.), Amsterdam, The Netherlands, pp. 1-22.
- Sole S. 1994. Effects of pregermination on germination properties of barley and resultant malt quality. *Journal of American Society of Brewing Chemist* 52: 76-83.

- Souto G. 2009. Cebada cervecera y malta En: Anuario OPYPA. Publicado en internet, Disponible en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-opypa-2009> Activo marzo 2020
- Steinbach H., Benech-Arnold R., Kristof G., Sánchez R. and Marcucci P. 1995. Physiological basis of pre-harvest sprouting resistance in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. ABA levels and sensitivity in developing embryos of sprouting resistant and susceptible varieties. *Journal of Experimental Botany* 45: 701-709.
- Suburú G., Gómez B., Lanaro V., De Leon T., Vazquez D., Castro M. y Motta L. 2007. Informe de resultados de la calidad industrial de la evaluación nacional de cebada cervecera. Cosecha 2006 (LATU). Montevideo, Uruguay, 50pp.
- Suburú, G., Gómez, B., Lanaro, V., De Leon, T., Vazquez, D., Castro, M. y Motta, L. 2008. Informe de resultados de la calidad industrial de la evaluación nacional de cebada cervecera. Cosecha 2007 (LATU). Montevideo, Uruguay, 54pp.
- TeKrony D., Egli D. and Phillips A. 1980. The effect of field weathering on the viability and vigor of soybean seed. *Agronomy Journal* 72: 749-753.
- Thomas T., Vivekananda J. and Bogue M. 1991. ABA regulation of gene expression in embryos and mature plants. In: *Abscisic acid: Physiology and biochemistry*, Davies, W.J and Jones H.G (eds.), Oxford, U.K, pp. 125-135
- Thomas K. and Usher J. 2001. Interactions between lactic acid bacteria and malting barley. *Aspects of Applied Biology* 62: 239-250.
- van Campenhout L. 2000. Interactions between barley respiratory activity and its microbial community: Towards a controlled germination process. Thesis Ph.D., Katholieke Universiteit, Leuven, Belgium, 224 pp.
- Vigliocco, A., Bel, Z.D., Pérez-Chaca, M.V., Molina, A., Zirulnik, F., Andrade, A.M. and Alemano, S. 2019. Spatio-temporal variations in salicylic acid and hydrogen peroxide in sunflower seeds during transition from dormancy to germination. *Physiologia Plantarum* 169: 27-39
- Walker-Simmons M. 1987. ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars. *Plant Physiology* 84: 61-66.
- Wootton B., Jacobsen J., Sherkat F and Stuart I. 2005. Changes in germination and alting Quality During Storage of Barley. *Journal of the Institute of Brewing* 111(1): 33-41
- Yang, L., Danzberger, J., Schöler, A., Schröder, P., Schlöter, M and Radl V. 2017. Dominant groups of potentially active bacteria shared by barley seeds become less abundant in root associated microbiome. *Frontiers in Plant Science* 8: 1005

- Yueshu L. and McCaig R. 2011. Study of the effects of pre-harvest sprouting in the storability, malting quality and brewing performance of three Canadian malting barley varieties. The 12th international Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals, Alberta, Canadá, p. 37
- Zhang X. Q., Westcott S., Panozzo J., Cakir M., Harasymow S., Tarr A. and Li C. 2012. Comparative analysis of Australian and Canadian barleys for seed dormancy and malting quality. *Euphytica* 188(1): 103-111.