

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RESPUESTAS BIOQUÍMICAS AL ESTRÉS POR EXCESOS HÍDRICOS
EN TRIGO Y CEBADA

por

Marcos FURTADO GARATE

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO
URUGUAY
2017

Tesis aprobada por

Director: -----
Ing. Agr. Luis Viega

Lic. MSc. Gastón Quero

Ing. Agr. Esteban Hoffman

Fecha: 16 de mayo de 2017

Autor: -----
Marcos Daniel Furtado Garate

AGRADECIMIENTOS

A Luis Viega y Gastón Quero por su dedicación y compromiso brindado a lo largo de toda la tesis. A Cristinia Mori y a Nicolás Mastandrea por su colaboración en determinadas mediciones. A todos los integrantes del laboratorio de bioquímica por la atención recibida en diferentes asuntos. A biblioteca de la Facultad de Agronomía que sin su ayuda hubiese sido imposible acceder al material bibliográfico. A todos los docentes y compañeros que han sido directa e indirectamente parte de mi proceso de aprendizaje. A Facultad de Agronomía en general.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
2.1 COMPORTAMIENTO GENERAL DEL SUELO EN ANEGAMIENTO.....	2
2.2 EFECTOS DE LOS DISTINTOS MOMENTOS EN EL QUE OCURRE EL ANEGAMIENTO EN TRIGO Y CEBADA.....	3
2.3 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE EL CRECIMIENTO.....	3
2.3.1 <u>Trigo y cebada</u>	5
2.4 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA DINÁMICA DEL NITRÓGENO EN PLANTA.....	5
2.5 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE EL CONTENIDO DE NITRÓGENO TOTAL EN PLANTA.....	6
2.6 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO EN EL CONTENIDO DE NITRATO EN PLANTA.....	7
2.7 ACUMULACIÓN DE PROLINA POR EFECTO DEL ANEGAMIENTO.....	8
2.8 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO EN EL CONTENIDO DE CLOROFILA a y b.....	9
2.9 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN PLANTA.....	9
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	11
3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ENSAYOS.....	11
3.2 DETERMINACIONES.....	13
3.2.1 <u>Crecimiento de raíz y parte aérea</u>	13
3.2.2 <u>Concentración y cantidad de nitrógeno total en raíz y parte aérea</u>	13
3.2.3 <u>Concentración y cantidad de nitrato en raíz y parte aérea</u>	13
3.2.4 <u>Concentración de prolina en parte aérea</u>	14
3.2.5 <u>Concentración de clorofila a y b en parte aérea</u>	14
3.2.6 <u>Concentración de carbohidratos totales solubles en parte aérea y raíz</u>	15
3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	15

4. <u>RESULTADOS</u>	17
4.1 CRECIMIENTO.....	17
4.2 CONTENIDO DE NITRÓGENO TOTAL.....	23
4.3 CONTENIDO DE NITRATO.....	29
4.4 CONTENIDO DE PROLINA.....	37
4.5 CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA a y b.....	37
4.6 PORCENTAJE DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES.....	40
5. <u>DISCUSIÓN</u>	49
6. <u>CONCLUSIONES</u>	52
7. <u>RESUMEN</u>	53
8. <u>SUMMARY</u>	54
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	55
10. <u>ANEXOS</u>	60

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Promedio de temperatura, porcentaje de Humedad Relativa % (HR) y Déficit de Presión de Vapor (DPV) desde siembra hasta cosecha para cada uno de los ensayos.....	12
2. P valor para la Materia Seca (MS) (mg.) en parte aérea (p.a.), raíz, total de la planta y en la relación (p.a.)/raíz de acuerdo al ANAVA.....	17
3. P valor para el porcentaje de N total en parte aérea, raíz, cantidad de N total en parte aérea, raíz, relación entre estos y cantidad de N total en planta entera (p.e.) de acuerdo al ANAVA.....	24
4. P valor para el porcentaje de N total en raíz para cada ambiente, de acuerdo al ANAVA.....	24
5. P valor de la cantidad de N total en parte aérea para cada ambiente de acuerdo al ANAVA.....	27
6. P valor para la relación N total en parte aérea (mg.)/N total en raíz (mg.) en los ambientes de julio y agosto de acuerdo al ANAVA.....	27
7. P valor de la concentración de NO_3^- y cantidad de NO_3^- en parte aérea, en raíz y de la relación de estos dos últimos, de acuerdo al ANAVA.....	30
8. Comparación de medias en concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea, para el ambiente de julio y agosto, en promedio de todas las variedades y condiciones hídricas.....	30
9. P valor de la concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea, para los ambientes de julio y agosto de acuerdo al ANAVA.....	31
10. Comparación de medias en concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea, en el ambiente de agosto, para la fuente de variación condición hídrica.....	31
11. P valor para la concentración de prolina de acuerdo al ANAVA.....	37
12. P valor para la concentración de clorofila a, clorofila b y su cociente de acuerdo al ANAVA.....	37
13. Comparación de medias para la concentración de clorofila a y b, para la fuente de variación Ambiente.....	38
14. P valor para la concentración de clorofila a, clorofila b y su cociente, para los ambientes de julio y agosto de acuerdo al ANAVA.....	38
15. Comparación de medias en concentración de clorofila a y b, para la fuente de variación Variedad, en la siembra de agosto.....	40

16. Comparación de medias en concentración de clorofila a y b para la fuente de variación condición hídrica, en la siembra de agosto.....	40
17. Análisis de varianza para el porcentaje de carbohidratos solubles CS en raíz, parte aérea y el cociente entre estos.....	41

Figura No.

1. Línea de tiempo representando momentos fenológicos para los ensayos de julio y agosto.....	12
2. Materia Seca (MS) en parte aérea (p.a.) (mg.) para cada variedad en el ambiente de julio y agosto, en promedio de ambas condiciones hídricas.....	18
3. MS en parte aérea (mg.) en promedio de las cuatro variedades, en cada condición hídrica y en cada ambiente.....	19
4. MS en raíz (mg.) en promedio de las cuatro variedades, en cada condición hídrica y en cada ambiente.....	20
5. MS total (mg.) para el promedio de ambos ambientes, en cada variedad y en cada condición hídrica.....	21
6. MS total (mg.) en cada variedad y en cada ambiente, en promedio de ambas condiciones hídricas.....	22
7. MS total (mg.) en promedio de las cuatro variedades, en cada condición hídrica y en cada ambiente.....	23
8. N total en raíz (mg.) en cada variedad y en cada ambiente, en el promedio de ambas condiciones hídricas.....	25
9. Porcentaje de N total en parte aérea para cada variedad y en cada condición hídrica, en el ambiente de julio.....	26
10. Porcentaje de N total en parte aérea para cada variedad y en cada condición hídrica, en el ambiente de agosto.....	26
11. Cantidad de N total en planta entera (p.e.) en las cuatro variedades y en ambos ambientes, en promedio de ambas condiciones hídricas.....	28
12. Cantidad de N total en planta entera en cada condición hídrica y en cada ambiente, en promedio de las cuatro variedades.....	29
13. Concentración de NO_3^- en raíz para cada variedad y en cada condición hídrica, en el ambiente de agosto.....	32
14. Concentración de NO_3^- en raíz en cada condición hídrica y en cada ambiente, en el promedio de las cuatro variedades.....	33
15. Cantidad de NO_3^- en raíz en cada variedad, en cada condición hídrica y en cada ambiente.....	34
16. Relación de NO_3^- en parte aérea (mg.)/ NO_3^- en raíz (mg.) para cada variedad, en cada condición hídrica y en cada ambiente.....	36
17. Concentración promedio de clorofila a en cada variedad y en cada condición hídrica en el ambiente de julio.....	39

18. Concentración promedio de clorofila b en cada variedad y en cada condición hídrica en el ambiente de julio.....	39
19. Porcentaje de CS en raíz en cada condición hídrica y en cada ambiente, en el promedio de las cuatro variedades.....	42
20. Porcentaje de CS en parte aérea en cada variedad y en cada ambiente, en promedio de ambas condiciones hídricas.....	43
21. Porcentaje de CS en parte aérea en cada condición hídrica y en cada ambiente, en promedio de todas las variedades.....	44
22. Relación entre el porcentaje de CS en parte aérea y el porcentaje de CS en raíz para cada condición hídrica y en cada ambiente, en el promedio de las cuatro variedades.....	45

1. INTRODUCCIÓN

A partir del inicio del siglo XXI la expansión de la siembra de los cultivos de invierno a nuevas zonas de suelos de menor capacidad de almacenaje e inconvenientes de drenaje interno han favorecido a las condiciones de anegamiento y/o déficit hídrico cada vez más frecuentes (Hoffman y Viega, 2011), esto ha ido en detrimento de los altos rendimientos. Esto impone el desafío de aumentar el requerimiento de tecnología necesaria para hacer frente a las limitantes (Hoffman y Viega, 2011). Este proceso es lo que se conoce como expansión agrícola, ocurriendo principalmente en las zonas centro, noreste y este del país (Hoffman y Viega, 2011). Relacionado a esto en Uruguay han ocurrido en los últimos años problemas de exceso hídrico con mayor frecuencia asociados a ciertas zonas del país, siendo los años más problemáticos el de 2012 y 2014¹ reflejándose en el bajo rendimiento de trigo y sobretodo de cebada (Hoffman et al., 2015). De la Cruz Jiménez et al. (2012) destacan la importancia de los mecanismos de tolerancia de las plantas al estrés hídrico por anegamiento a causa de las olas de inundación presentadas en diferentes zonas del mundo y por la expansión agrícola. Esto pone en evidencia la importancia de investigar acerca de las respuestas al anegamiento de los cultivos de invierno en especies como trigo y cebada cervecera ya que representaron aproximadamente el 48 y 41 % respectivamente de la superficie sembrada de los cultivos de invierno en el año 2016 según la Encuesta Agrícola (MGAP. DIEA, 2016), se destaca que el área sembrada de la cebada cervecera en ese año fue la mayor área registrada por estas encuestas agrícolas.

La Evaluación Nacional de Cultivares (ENC) evalúa ciertas características del comportamiento agronómico de cada genotipo, algunos de estas son la productividad, comportamiento sanitario, ciclo a espigazón y otras características agronómicas, todos aspectos a tener en cuenta en una planificación de siembra, pero también a los cultivares se les puede hacer una caracterización por comportamiento a diferentes situaciones de manejo lo que ayuda al mejor uso y manejo del cultivar. Sin embargo, tanto la ENC como la caracterización por manejo no describen el comportamiento de los genotipos a condiciones de estrés por exceso hídrico. A partir del año 2007 se empezó a caracterizar cultivares al estrés hídrico durante el periodo crítico, en las variedades de trigo y cebada más utilizadas en el país (Hoffman y Viega, 2011).

Para caracterizar las respuestas de los cultivares al exceso hídrico es de interés poder conocer variables medibles en plantas en estado temprano del desarrollo, y así poder diagnosticar si un genotipo presenta tolerancia al anegamiento. El objetivo del presente trabajo fue identificar distintas variables con respuesta diferencial al anegamiento en variedades de trigo y cebada, y estudiar si algunas permiten predecir el comportamiento varietal en dichas condiciones de estrés y caracterizar las respuestas fisiológicas generales a la ocurrencia de dicho factor de estrés.

¹ Hoffman, E. 2017. Com. personal.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 COMPORTAMIENTO GENERAL DEL SUELO EN ANEGAMIENTO

Los suelos anegados se caracterizan por el reducido O_2 disponible en las capas de la superficie del suelo y anaerobiosis en otros lugares. La difusión de oxígeno en un suelo anegado es despreciable ya que la resistencia a la difusión de O_2 en agua respecto al aire es 10000 veces mayor. Durante el anegamiento el aire de los poros del suelo es remplazado por agua y el O_2 restante es rápidamente consumido por la respiración de las raíces y actividad microbiana (Kreuzwiese et al., 2002). En consecuencia la concentración de O_2 en el suelo anegado es menor respecto a la condición de suelo drenado (Malik et al., 2003), disminuyendo a menos de 1% en el día del comienzo del anegamiento (Trought y Drew, 1980a).

Balakhnina et al. (2010) caracterizaron la aireación del suelo utilizando tres parámetros: Eg (air-filled porosity), ODR (oxygen diffusion rate), y Eh (redox potencial). La disponibilidad de oxígeno para las raíces cambió en pocas horas de anegamiento. El Eg disminuyó de 15–17% a 0%, el ODR disminuyó de (2.28–3.44) a (0.09–0.28) $\mu\text{mol } O_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y el Eh también disminuyó de 543 a 70 mV. Estos parámetros volvieron a sus valores iniciales luego de 2 días de suelo drenado. Para Malik et al. (2003) el potencial redox también se redujo en suelo anegado después de 21 días en las distintas distancias de anegamiento desde la superficie del suelo. En los sitios drenados el potencial redox permaneció en 600 mV en todo el experimento. Setter y Water (2003) destacaron la relevancia de caracterizar el ambiente donde ocurre el anegamiento (fecha, duración e intensidad) ya que esto es otra herramienta más para un efectivo mejoramiento de germoplasma para ambientes objetivos.

Las propiedades químicas del suelo cambian cuando las condiciones anaeróbicas persisten durante varios días. Se da un aumento en la disponibilidad de algunos elementos mientras hay una disminución en otros. Además de la disponibilidad, el anegamiento también limita la absorción de nutrientes de la planta al menos en trigo, mediante la reducción de la transpiración de la planta y la disminución de las funciones de la raíz. Un ejemplo del cambio en las propiedades químicas del suelo es el aumento en la desnitrificación del nitrógeno, esto afecta la cantidad de nitrógeno que se concentra en las hojas de las plantas (Samad et al., 2001). También las concentraciones de dióxido de carbono aumentaron hasta el día quince y las de etileno hasta el día diez de anegamiento. En cambio la concentración de óxido nitroso aumentó durante los tres primeros días del anegamiento, disminuyendo posteriormente hasta llegar a valores muy bajos a los diez días de anegamiento en suelo. Las concentraciones de nitrato, calcio y potasio en la solución del suelo disminuyeron durante el período de anegamiento hasta los quince días, mientras que las concentraciones de fósforo, manganeso y hierro fueron variables y no hubo correlación con el periodo de anegamiento. La concentración de nitratos disminuyó probablemente

como consecuencia de la desnitrificación, y los cambios en concentración de calcio y potasio resultaron directamente proporcionales a la concentración de nitrato (Trought y Drew, 1980a).

2.2 EFECTOS DE LOS DISTINTOS MOMENTOS EN EL QUE OCURRE EL ANEGAMIENTO EN TRIGO Y CEBADA

Gardner y Flood (1993) demostraron que el impacto del anegamiento sobre el cultivo de trigo depende del estado fenológico del cultivo en el que ocurre dicho estrés. Los genotipos con maduración más tardía obtuvieron rendimientos similares con y sin drenado, en cambio los tipos de maduración temprana rindieron menos en anegamiento comparado con áreas control, esto fue debido a que el periodo de anegamiento coincidió con el periodo crítico de rendimiento en los cultivares de ciclos más cortos, mientras que los cultivares de ciclo más largos evitaron el exceso hídrico en el periodo crítico de rendimiento.

El exceso hídrico o déficit hídrico en el periodo crítico (20 días pre-floración y 10 días post-floración) puede afectar el rendimiento y calidad del grano en forma significativa para los distintos cultivares de trigo y cebada (Hoffman y Viega, 2011).

Para Leyshon y Sheard (1974) en cebada, cuando el anegamiento se produjo en una etapa fenológica más tardía, mayores fueron los efectos de anegamiento sobre el crecimiento pos inundación. Luego de un anegamiento de siete días en cebadas jóvenes (14-21 días de crecimiento) la concentración de nitrógeno fue el 51 % de la de condición control y transcurridos 14 días del drenado la reducción fue de 15 %. En contraste a esto, cebadas de 35 días de crecimiento presentaron una reducción de 26 % luego de los siete días de anegamiento, pero luego de 14 días del drenado la reducción fue de 27 %, estas al final tuvieron una mayor reducción de la concentración de nitrógeno respecto a las cebadas jóvenes. El grado de depresión y recuperación luego del drenado depende de la duración del anegamiento y la edad de la planta cuando es anegada, la mayor depresión y recuperación ocurre cuando la planta es joven.

2.3 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE EL CRECIMIENTO

La exposición de plantas a un parcial o total anegamiento tiene importantes alteraciones en varios procesos fisiológicos y metabólicos (Pomeroy y Andrews, 1979).

Chen et al. (2002) estudiando los efectos del anegamiento en la especie *Lepidium latifolium* (Crucífera) que crece en humedales y áreas ribereñas del oeste de Estados Unidos, observaron que el crecimiento del sistema radicular fue afectado luego de tres días de anegamiento, inhibiéndose la penetración de las raíces y la expansión de las hojas. Luego de siete días emergieron raíces adventicias, se dañó el sistema radicular original y hubo redirección horizontal del crecimiento de raíces existentes.

Luego de treinta días de anegamiento hubo daños y muerte de mucho del sistema radicular original, aunque a pesar de este efecto todas las plantas sobrevivieron al anegamiento.

La duración del anegamiento generó cambios en la asignación de biomasa en las plantas de la especie *Lepidium latifolium*. En plantas anegadas la relación raíz/tallo varió de 0,5 a 0,7 durante el anegamiento mientras que en el control también incrementó la relación raíz/tallo a medida que crecían pero en una magnitud mucho mas importante. En el día cincuenta de la inundación la relación raíz/tallo en plantas anegadas fue 53 % de las de plantas control. En consecuencia la duración del período de anegamiento tuvo un efecto significativo sobre la biomasa total y sobre la proporción raíz/tallo. Chen et al. (2002), Balakhnina et al. (2010) estudiando la especie *Vicia Faba* obtuvieron similares resultados.

Lambers y Steingrover (1978) trabajaron con dos genotipos de *Senecio* (Familia Asterácea), uno intolerante y el otro tolerante al anegamiento. Los resultados obtenidos en anegamiento fueron menor crecimiento en raíz para el intolerante al anegamiento respecto al tolerante. Cuando las condiciones del experimento fueron aeróbicas la tasa de crecimiento de raíz del genotipo intolerante fue más alta que la del tolerante.

Lawton (1946) estudiando maíz encontró una reducción en crecimiento de la parte aérea y raíz cuando el contenido de humedad del suelo fue en aumento, disminuyendo el oxígeno del suelo. En cambio cuando forzó una entrada de aire en el suelo obtuvo un incremento en el crecimiento de la parte aérea y raíz. Hopkins et al. (1950) estudiando el comportamiento de las especies *Nicotina tabaccum*, *Lycopersicon esclutenum* y *Soja max* sometidas a diferentes cantidades de O₂ en suelo, también obtuvieron que la materia fresca de la parte aérea y raíz fueron mayores en control respecto a los diferentes tratamientos de anegamiento.

El efecto en la Tasa de Asimilación Neta (TAN) en la hoja verde en los primeros 8 días de anegamiento fue muy bajo, en cambio entre los 8 y 15 días de anegamiento la caída de la TAN fue muy importante (Trought y Drew, 1980a).

A nivel mundial hay muchos antecedentes en el comportamiento de los cultivos a su tolerancia al stress hídrico (Setter y Waters, citados por Hoffman y Viega, 2011). Una situación interesante sería que cada cultivar nuevo en el mercado tuviese detallada la respuesta al exceso hídrico y déficit hídrico. Esto se aprovecharía para realizar una correcta elección del cultivar en la planificación del predio, de acuerdo a la situación ambiental particular de cada chacra (Hoffman y Viega, 2011).

2.3.1 Trigo y cebada

Malik et al. (2003) trabajaron con la especie *Triticum aestivum* en anegamiento a distintas distancias desde la superficie del suelo. La producción de materia seca total en condición anegada se redujo 50 % luego de 21 días de anegamiento total. Esto obedeció entre otros factores a la reducción del macollaje, se enlenteció el crecimiento de la hoja y se redujo la cantidad de raíces seminales un 85 %. En cuanto a las raíces adventicias se observó un incremento de 35 % bajo la condición anegada respecto a control. Esto se debe a que en anegamiento se estimuló la producción de raíces adventicias por vástago, pero disminuyó el número de macollos, esto lleva a una menor producción de raíces totales por planta.

Trought y Drew (1980a) observaron que en 48 horas de anegamiento, la acumulación de biomasa fresca de la parte aérea se enlenteció respecto al tratamiento control en plantas de trigo. Estas plantas sobre el suelo anegado resultaron tener una emergencia de macollos más tardía que en control (3,2 vs. 6,8 macollos/planta, respectivamente) y una acumulación de materia seca también más lenta que plantas control. Las laminas del tallo principal en suelo anegado elongaron más lentamente y fueron al final de su crecimiento más cortas que las laminas en situación control.

El anegamiento del suelo alteró la relación raíz/parte aérea de trigo disminuyendo el crecimiento de la raíz en forma más importante que el crecimiento de la parte aérea (Trought y Drew, 1980a). Para los investigadores Limpinuntana y Greenway (1979) la planta de cebada luego de cinco días de anegamiento (a partir de su primera hoja) disminuyó severamente el crecimiento de la raíz, mientras que el crecimiento de la parte aérea no se afectó en esos cinco días. A partir del sexto día si hubo una reducción en la parte aérea, posiblemente relacionada al desequilibrio entre la parte aérea y raíz. La proporción de parte aérea/raíz en el día cinco de anegamiento fue de 5/3, en cambio en condición control fue de 3/9.

2.4 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA DINÁMICA DEL NITRÓGENO EN PLANTA

EL nitrógeno es esencial para el crecimiento de las plantas. La mayoría del nitrógeno en planta está en carácter orgánico. En cuanto a la forma inorgánica la mayoría esta como NO_3^- (nitrato), de esta forma se almacena el N inorgánico. El nitrógeno forma parte de las moléculas de clorofila, aminoácidos esenciales, proteínas, enzimas, nucleoproteínas, hormonas, Adenosin Trifosfato (ATP), también el N interviene en la utilización de carbohidratos y otros procesos metabólicos (Perdomo y Barbazán, 2010).

En la planta el N es móvil, en ella puede distribuirse o translocarse. Las plantas absorben nitrógeno como NO_3^- o NH_4^+ (amonio) pero mediante la acción de las

bacterias nitrificantes la mayoría de los cultivos absorben la gran parte de su nitrógeno como NO_3^- . En situaciones particulares, como son las condiciones anaeróbicas o inmediatamente post aplicación de fertilizantes amoniacales, las plantas pueden absorber mas NH_4^+ que NO_3^- (Perdomo y Barbazán, 2010).

Las plantas son incapaces de almacenar NH_4^+ , ya que su acumulación es toxica. Cuando el nitrógeno es absorbido de esa manera la planta detoxifica en forma de N, para esto el NH_4^+ se combina con carbohidratos para producir aminoácidos. Cuanto mayor la absorción de NH_4^+ la planta utilizará mayores cantidades de carbohidratos producidos por la fotosíntesis para formar aminoácidos y proteínas. En cambio las plantas pueden almacenar grandes cantidades del NO_3^- hasta que las condiciones ambientales sean favorables para su uso (Perdomo y Barbazán, 2010).

Según Brandao y Sodek (2009) una vez que los nitratos han sido absorbidos existen tres posibles vías de destino en las células de la raíz. La primera que el nitrato se almacene en la vacuola de la raíz. La segunda es que el nitrato sea reducido y asimilado, formando aminoácidos, algunos de los cuales son transportados a la parte aérea vía xilemática. La tercera ruta es que los nitratos se transporten vía xilema para reducirse y asimilarse en la parte aérea. Según Perdomo y Barbazán (2010) la secuencia de asimilación consta en que el NO_3^- se reduce a NO_2^- (nitrito) a través de la enzima nitrato reductasa y la presencia de fotosintatos, el NO_2^- se reduce a NH_3 (amoníaco) por la acción de la nitrito reductasa, el NH_3 obtenido se incorpora a ácido glutámico por acción de la glutamina sintetasa y glutamato sintasa ubicadas dentro de las células.

2.5 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE EL CONTENIDO DE NITRÓGENO TOTAL EN PLANTA

Lal y Taylor (1970), encontraron que la cantidad de nitrógeno en hoja bandera fue más alto en plantas en condición drenada que en anegamiento. Trought y Drew (1980b) en plántulas de trigo encontraron que el contenido de nitrógeno en parte aérea en control aumentó de 0,125 μmoles a 1,5 μmoles en ocho días, en cambio en condición anegada aumentó muy levemente, de 0,125 μmoles a 0,180 μmoles . La concentración de nitrógeno en la parte aérea de plántulas de trigo con dos días de anegamiento fue menor que en control (2014 y 2910 $\mu\text{moles g}^{-1}$ MS respectivamente) y a los quince días de anegamiento la diferencia fue aun mayor (621 y 2016 $\mu\text{moles g}^{-1}$ MS respectivamente). Rogers y Davies (1973) en *Dactylis glomerata*, *Phleum pratense* y *Lilium perenne*, encontraron que todas las especies tenían mayor porcentaje de nitrógeno en planta en suelos bien drenados que en suelos con algún tipo de anegamiento.

Huang et al. (1994b) midieron el estatus de nitrógeno en parte aérea (en la hoja más joven totalmente expandida) para dos cultivares de trigo, obteniendo que el contenido de nitrógeno en el cultivar más sensible al anegamiento disminuyó 22 % en

condición anegada respecto a plantas en suelo drenado, en cambio el cultivar más tolerante redujo la concentración de nitrógeno en parte aérea en menor porcentaje que el anterior.

Leyshon y Sheard (1974) trabajando en cebada y Malik et al. (2003) en trigo obtuvieron un color de hojas verde pálido en plantas expuestas a suelos con niveles bajos de O_2 , indicando deficiencia de nitrógeno en su tejido respecto al verde más oscuro en hojas en condición control.

Kreuzwieser et al. (2002) mostraron una alta y positiva correlación entre la tolerancia a la inundación y la absorción de N.

2.6 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO EN EL CONTENIDO DE NITRATO EN PLANTA

En maíz disminuyó la absorción de NO_3^- en tratamientos de anegamientos intermitentes y anegamientos constantes a distintas profundidades. Esto fue debido a la pérdida de nitrógeno del suelo por el proceso de desnitrificación y por una menor mineralización de nitrógeno del suelo (Lal y Taylor, 1970). Buwalda (1989), en trigo en condición de baja concentración de oxígeno en suelo ($0,003 \text{ mol. m}^{-3}$) durante 10 días encontró que la tasa de absorción de NO_3^- decreció. Lee (1978) obtuvo en plantas de cebada que la absorción del nitrato por las raíces en condición control y anegada fue de 26,1 y $0,9 \mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco respectivamente.

Lee (1978), obtuvo que en condiciones anegadas el movimiento de nitrato a la parte aérea se redujo y para Buwalda (1989) el transporte de NO_3^- a la parte aérea disminuyó un 30 %.

La reducción del NO_3^- en las raíces se detuvo casi totalmente en condición anegada, siendo la asimilación de NO_3^- por las raíces en control y anegado de 15,7 y $0,1 \mu\text{mol g}^{-1}$ respectivamente (Lee, 1978).

Lee (1978), en condiciones aerobias y suministrando externamente carbohidratos, encontró que el nitrato fue asimilado por raíces de cebada, esto coincide con las mediciones de Nitrato Reductasa (NR), enzima limitante para la asimilación de nitrato. En cambio la asimilación de nitrato disminuyó en condiciones anegadas a causa del no suministro de glucosa. En un conjunto de plantas superiores, cuando el sistema radicular fue anegado la actividad de la NR aumentó en la parte aérea en plantas tolerantes al anegamiento en cambio ocurrió lo inverso en las intolerantes, disminuyendo la actividad de la NR en las hojas cuando las raíces fueron anegadas (García-Novo y Crawford, 1973). Brandao y Sodek (2009) observaron que la actividad de la NR disminuyó en las raíces durante los cuatro días del periodo de déficit de oxígeno, en cambio en condiciones control los altos valores iniciales de la enzima

fueron mantenidos a lo largo del experimento. En condiciones anaeróbicas la asimilación de nitrato en raíces podría ser seriamente restringida ya que la actividad de la NR disminuye de manera importante luego de comenzado la condición de hipoxia.

García-Novo y Crawford (1973) observaron un marcado incremento de nitrito en hojas y raíces después del anegamiento, este incremento fue un particular síntoma de condiciones de anegamiento, en cambio el nitrito fue casi indetectable en plantas no anegadas. La presencia de nitrito es un fenómeno consecuente del anegamiento y general a cualquier especie, siendo esta tolerante o intolerante, ya que la reducción de nitrato proporciona una alternativa como aceptor de electrones para el oxígeno. Las varias facetas del metabolismo de nitrato facilita la supervivencia de especies tolerantes al anegamiento durante periodos de parcial anoxia.

Para Buwalda (1989) en las soluciones con déficit de O_2 , la parte aérea de las plantas tuvieron más baja concentración de NO_3^- que las plantas en condiciones control. Trought y Drew (1980b) observaron que la concentración de NO_3^- en la parte aérea de plántulas de trigo con dos días de anegamiento fue menor que en control (36 vs. 307 $\mu\text{moles g}^{-1}$ MS respectivamente) y a los quince días fue de 21 y 107 $\mu\text{moles g}^{-1}$ MS respectivamente. En el trabajo de Lee (1978) la acumulación de nitrato por las raíces en condición control y anegado fue de 10,4 y de 1.0 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fr. wt. respectivamente.

2.7 ACUMULACIÓN DE PROLINA POR EFECTO DEL ANEGAMIENTO

La prolina es un aminoácido, un soluto orgánico que forma parte de los llamados “solutos compatibles” ya que su presencia no inhibe la actividad enzimática, este soluto bajo ciertas condiciones se puede acumular en el citoplasma (Stewart y Lee, 1974). Cuando la planta está en una situación de sequía o salinidad la prolina se concentra en la célula otorgándole tolerancia (Kuznetsov y Schevyakova, 1999), siendo relevante para mantener el potencial osmótico de las células (Chiang y Dandekar, 1995) o la turgencia de los tejidos (Ramanjulu y Sudhakar, 2000). Generalmente la posibilidad de acumular prolina se relaciona a genotipos que tienen tolerancia a la sequía (Al-Sulaiti et al., 1990). Claramente la acumulación de prolina en la planta es un indicador de situaciones de estrés osmótico, según Harsh (2003) para evitar la desecación de la planta.

Para Olgun et al. (2008) hubo diferencias significativas en el contenido de prolina en distintos escenarios de anegamiento en trigo. En situación control hubo una concentración de 0,15 $\mu\text{moles/g}$ hoja fresca, mientras que en anegamiento se incrementó hasta 8,55 $\mu\text{moles/g}$ hoja fresca en el día 20 de anegamiento, manteniéndose esa concentración hasta los 50 días de anegamiento. El autor encontró una respuesta lineal para los distintos escenarios de anegamiento y contenidos de prolina, por cada día más de anegamiento la prolina aumentó 0.19 $\mu\text{mol/g}$ hoja fresca.

2.8 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO EN EL CONTENIDO DE CLOROFILA a y b

Balakhnina et al. (2010) trabajando con la especie *Vicia faba* obtuvieron que la concentración de clorofila (a+b) se mantuvo constante en hojas en situación control durante 27 días de crecimiento. En cambio la concentración disminuyó luego de 15 días de suelo anegado y luego de 27 días de anegamiento la concentración fue el 63 % del control. Panga et al. (2004), en genotipos de cebada de orígenes chinos, australianos y japoneses, encontraron en todos los casos que el contenido de clorofila total (a + b) en anegamiento fue menor que para la condición control, siendo la reducción del contenido de clorofila diferencial para los distintos cultivares.

Collaku y Harrison (2002) trabajando con nueve genotipos de trigo en distintos niveles de anegamiento obtuvieron que la media de la clorofila de todos los genotipos disminuyó a medida que el tiempo de anegamiento aumentó desde 0 a 30 días. Lo mismo ocurrió en el experimento de Olgun et al. (2008) en trigo, a distintos días de anegamiento (5, 10, 15, 20, 25, 50), a medida que los días de anegamiento aumentaron disminuyó el contenido de ambas clorofilas. Las clorofilas disminuyeron de condición control a 50 días de anegamiento, 1,163 vs. 0,187 y 0,392 vs. 0,037 mg/g de hoja fresca, clorofila a y b respectivamente, estos encontraron una respuesta lineal entre días de anegamiento y contenido de clorofila.

2.9 EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN PLANTA

Huang y Johnson (1995) encontraron que la concentración de CS (Carbohidratos Solubles) se mantuvo o incrementó en raíces y parte aérea en la mayoría de sus experimentos de condiciones de anegamiento.

Atwell et al. (1985) trabajando con plantas de maíz tratadas en un rango de concentración de O_2 obtuvieron un 126 % de aumento en niveles de azúcar y el doble en niveles de aminoácidos en raíz, luego de que las mismas estuvieran expuestas a una concentración de $0,04 \text{ mol } O_2 \text{ m}^{-3}$ durante 2 días. La acumulación de estos substratos coincidió con el retraso del crecimiento de la raíz, pero no estuvo acompañado por cambios en el crecimiento de la parte aérea. Los motivos de que estos substratos se hayan acumulado en las raíces cuando la concentración de O_2 fue baja podría ser que se inhibió la utilización en raíz de azúcar y aminoácidos.

La cantidad de CS en cebada aumentó en parte aérea y raíz después de 7 horas de baja concentración de O_2 , la cantidad aumentó aún más en el quinto día con valores de 2 a 10 veces más altos respecto a control (Limpinuntana y Greenway, 1979). Sin embargo este incremento se enlenteció luego del quinto día, probablemente relacionado a un reducido crecimiento de la parte aérea. Para Barrett – Lennard et al. (1988) trabajando con plantas juveniles de trigo crecidas en hipoxia durante 10 a 14

días también obtuvieron una mayor [CS] (paréntesis rectos en todos los casos hace referencia a la concentración del compuesto bioquímico o elemento químico en cuestión) en parte aérea y raíz. Benjamin y Greenway (1979) en cebada encontraron que ocurrió el mismo efecto en raíz, detectando que la acumulación se dio en concentraciones de O_2 que restringían el crecimiento, aunque en algunos casos la acumulación no estuvo asociada con el bajo nivel de O_2 , siendo que en un rango de concentraciones de O_2 la acumulación de CS es consecuencia de la reducción de crecimiento.

Huang y Johnson (1995) trabajando en trigo con un cultivar tolerante al anegamiento y otro sensible, luego de 21 días de anegado, reportaron que la concentración de fructosa en hoja fue superior respecto al control, la sacarosa inferior y no hubo diferencias para la glucosa, en ambos genotipos. El descenso de la sacarosa podría estar afectado por la reducción en la fotosíntesis para las plantas en anegamiento. En cambio, todos los CS en raíz en anegamiento aumentaron respecto al control en el cultivar tolerante, mientras que para el cultivar sensible solamente aumentó la fructosa en condición anegada. Los autores sugirieron que el incremento en la partición de carbono a la raíz en condiciones de anegamiento podría ser una importante característica adaptativa para la supervivencia de la raíz.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ENSAYOS

El presente trabajo forma parte de una de las líneas de investigación del grupo de trabajo interdisciplinario de Agricultura de la Facultad de Agronomía que integran docentes de los departamentos de Biología vegetal y Producción vegetal. Se trabajó en la determinación de diferentes componentes de la planta en muestras obtenidas en ensayos desarrollados durante el año 2014 en invernáculo, de la Facultad de Agronomía, sede Sayago. De un total de 4 ensayos efectuados, se seleccionaron dos de ellos a los efectos de las determinaciones efectuadas. En los 4 ensayos se estudió el efecto de un período de anegamiento durante el macollaje, en dos variedades de cebada y dos variedades de trigo. Dichos ensayos fueron conducidos por los bach. Luis Morales y Felipe Scaglione, como parte de sus trabajos finales de grado de la carrera de ingeniería agronómica.

Los dos ensayos fueron seleccionados porque presentaron el mismo número de días desde siembra hasta la imposición del período de estrés, pero presentaron diferentes tiempos de anegamiento (Z21 – Z30). Dichas diferencias se obtuvieron a través de dos fechas de siembra (15/7/2014 y 22/8/2014). Las especies utilizadas fueron trigo y cebada porque juntas representan cerca del 90 % del área total sembrada para cultivos de invierno en la R.O.U en el año 2016, según la Encuesta Agrícola (MGAP. DIEA, 2016), en los últimos años también han sido las especies predominantes. Las variedades utilizadas fueron seleccionadas por haber presentado comportamiento diferencial al estrés por anegamiento en condiciones semicontroladas durante el período de encañazón (Hoffman y Viega, 2011). En trigo se utilizaron las variedades, Nogal (tolerante) y Churrinche (susceptible) mientras que en cebada se utilizaron las variedades Arrayán (tolerante) y Carumbé (susceptible).

Las plantas fueron crecidas en condiciones de capacidad de campo hasta el momento de inicio de macollaje, a partir de ese momento se continuó regando la mitad de las unidades experimentales a capacidad de campo y la otra mitad fue mantenida a saturación con una lámina de agua por encima de la superficie del sustrato de aproximadamente 2 cm (anegamiento). Para cada ensayo se usaron macetas, cada una contenía un sustrato homogenizado compuesto por arena y vermiculita en proporción 3:1. En cada maceta se plantaron 5 semillas del mismo cultivar, luego de la emergencia se ralearon 2 plántulas quedando definitivamente 3 por maceta, en igual estado fenológico. Para el riego se utilizó una solución con suficiencia nutricional (Hoagland).

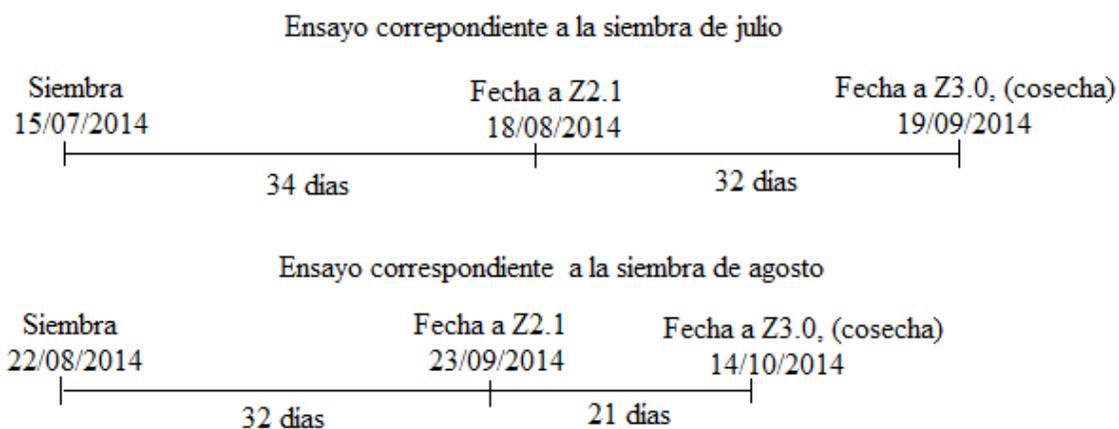


Figura 1. Línea de tiempo representando momentos fenológicos para los ensayos de julio y agosto

En ambos ensayos se registraron diariamente los valores de temperatura y humedad relativa a partir de los cuales se calculó la suma térmica ($T_b = 0$) y el déficit de presión de vapor (Cuadro No. 1).

Cuadro 1. Promedio de temperatura, porcentaje de Humedad Relativa % (HR) y Déficit de Presión de Vapor (DPV) desde siembra hasta cosecha para cada uno de los ensayos

Factores ambientales	Ensayo de julio	Ensayo de agosto
T°C	16,34	17,47
HR %	74,48	71,47
DPV	0,623	0,687
Suma térmica	539,3	384,5

El diseño experimental fue de parcelas al azar con 4 repeticiones. Los efectos de las fuentes de variación del experimento para cada variable se analizaron mediante un análisis de varianza (ANAVA), a través del programa estadístico Infostat. En el ANAVA se utilizó un nivel de significancia $\alpha=0,05$. Para la separación de medias se utilizó la prueba de comparación múltiple del test de Tukey ($P<0,05$) y en el caso que fuera necesario se realizó contrastes ortogonales.

3.2 DETERMINACIONES

3.2.1 Crecimiento de raíz y parte aérea

Finalizado el período de estrés (Z3.0) en ambos ensayos se cosecharon las 3 plantas de cada maceta. Cada planta fue separada en parte aérea y raíz, una de ellas fue secada a estufa durante 3 días a 60 °C y a partir de ella se estimó el peso seco por planta de ambas fracciones, la suma de ambas fracciones y la partición de MS como el cociente entre la cantidad de MS en parte aérea y la cantidad de MS en raíz. Dichas determinaciones fueron efectuadas por los estudiantes L. Morales y F. Scaglioni.

3.2.2 Concentración y cantidad de nitrógeno total en raíz y parte aérea

Para la medición de N total (nitrógeno orgánico e inorgánico) se utilizó el material vegetal seco de la raíz y parte aérea para lo cual se procedió a la molienda (molino marca Karl Kolb) y se tamizó mediante una malla de tamaño de 2 mm. La determinación de la concentración de N total (Dumas method; IAEA, 1990) de las muestras se determinó en un analizador elemental (Flash EA 112) acoplado a un espectrómetro de masa de relaciones isotópicas (Delta PLUS, Finnigan MAT, Bremen, Germany). La precisión (desvío estándar) de la determinación de este índice, basada en medidas repetidas de un estándar de laboratorio fue de 0,1 %.

A partir de los valores de concentración de N total en cada fracción se obtuvo el contenido de N total como el producto de la concentración por el peso seco de la fracción. A su vez se calculó la partición de N como el cociente entre la cantidad de N en parte aérea y la cantidad de N en raíz y la cantidad de N total en planta entera (p.e.) como la suma de la cantidad de N en parte aérea y la cantidad de N en raíz.

3.2.3 Concentración y cantidad de nitrato en raíz y parte aérea

Para la medición de nitrato en parte aérea y raíz se utilizó el material vegetal seco, el procesamiento del material vegetal se describió en los ítems. 3.2.1 y 3.2.2. El método utilizado para la extracción y determinación de NO_3^- en cada fracción de la planta fue el colorimétrico, propuesto por Cataldo et al. (1975). Se utilizó 0,1 ml de muestra previamente calentada a baño María (90 °C durante 15 minutos), a esta se le agregó 400 μl de ácido salicílico al 5 %. Luego de agitar y de 20 minutos se le agregó 9,5 ml de NaOH 3,8 N. Una vez enfriado, se tomó lectura de la absorbencia a 410 nm en un espectrofotómetro Shimatzu, utilizándose agua destilada para el blanco.

A partir de los valores de concentración de nitrato ($\mu\text{moles NO}_3^-/\text{mg}$ peso seco) de cada fracción de la planta, se obtuvo la cantidad de NO_3^- en miligramos (mg.)

de cada fracción de la planta. A su vez se calculó la partición de la cantidad de NO_3^- como el cociente entre la cantidad de NO_3^- en parte aérea y la cantidad de NO_3^- en raíz.

3.2.4 Concentración de prolina en parte aérea

Para la medición de prolina se utilizó material congelado de la parte aérea. La conservación del material fresco comenzó con la cosecha de la segunda planta de cada maceta, esta se conservó en freezer a una temperatura de $-80\text{ }^\circ\text{C}$. Previo a las mediciones, se separó la raíz de la parte aérea y luego fueron molidas en un mortero con nitrógeno líquido. La cuantificación de prolina se realizó según Troll y Lindsley (1955) y la extracción de prolina de las hojas se realizó según Charest y Phan (1990). Una muestra fresca de 50-100 mg. se maceró con 800 μl . de una mezcla de Metanol-Cloroformo-Agua (MCA), 12:5:1. El homogenizado se centrifugó a 5000 rpm durante 2 minutos a temperatura ambiente. Se recogió el sobrenadante y a este se le adicionó 200 μl de cloroformo y 300 μl de agua destilada. Se centrifugó nuevamente 1 minuto, a la fase superior se le adicionó 1000 μl de acético glacial y 1000 μl de nihidrina. Esto se calentó a baño María durante 1 hora a 90° , luego de enfriado a temperatura ambiente se le adicionó 1000 μl de tolueno, se agitó vigorosamente durante 5 minutos y se dejó decantar hasta que se formen dos fases. Se dejó aclarar la fase de tolueno (fase superior) durante toda la noche a $4\text{ }^\circ\text{C}$ y se tomó la lectura de la absorbencia a 515 nm. Como estándar se uso L-prolina. El valor de la absorbencia se lo dividió por el peso de la muestra, obteniendo la concentración de prolina (nmoles de prolina/g material fresco)

3.2.5 Concentración de clorofila a y b en parte aérea

Para la medición de clorofila a y b se utilizó material congelado (ítem 3.2.4). La extracción y determinación de clorofila se realizó a través del método propuesto por Wellburn (1994). Se tomó 0,1 gramo de material vegetal se maceró con 1000 μl de cloroformo, luego se diluyó 100 μl de extracto en 900 μl de cloroformo y se tomó la lectura de la absorbencia a 665,6 y 647,6 nm, a y b respectivamente. Mediante las formulas, clorofila a= $11,47 * (\text{Abs } 665,6) - 2 * (\text{Abs } 647,6)$ y clorofila b= $21,85 * (\text{Abs } 647,6) - 4,53 (\text{Abs } 665,6)$, a cada valor de clorofila se lo dividió entre el peso de la muestra, obteniendo mg. de clorofila en 1 g de material fresco.

A partir de los valores de concentración de clorofila a y b se obtuvo la partición de la concentración de clorofila a y b, como el cociente entre la concentración de clorofila a y b.

3.2.6 Concentración de carbohidratos totales solubles en parte aérea y raíz

Para la medición de CS en raíz y parte aérea se utilizó material vegetal congelado (ítem 3.2.4). La extracción y determinación de los CS se realizó a través del método propuesto por Mc. Cready et al. (1950), Yemm et al. (1954), respectivamente.

Se pesó 100 mg. de muestra vegetal y se maceró con 1000 μ l de etanol 80 %, luego se centrifugó 15 minutos a 5000 rpm. Se tomó 500 μ l del sobrenadante y se le adicionó 2500 μ l de antrona. Luego de agitar se llevo a baño María durante 10 minutos a 100°C, al enfriar a temperatura ambiente se tomó la lectura de la absorbencia a 625 nm. Se preparó una curva de calibración absorbencia vs. concentración (mg/l) con las soluciones estándares de glucosa en etanol 80%. Para aquellas mediciones donde la lectura de la absorbencia sobrepasó el rango de medida del espectrofotómetro se realizó una dilución 1/19 del extracto, usando como solvente 950 μ l de antrona y 50 μ l del extracto.

A partir de los valores de % CS en cada fracción de la planta, se calculó la partición del porcentaje de CS como el cociente entre el porcentaje de CS en parte aérea y el porcentaje de CS en raíz.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las fuentes de variación utilizadas en el modelo lineal general fueron el Ambiente (A), Variedad (V) y la Condición Hídrica (CH). Los niveles de la fuente de variación de la Variedad fueron Arrayán, Carumbé, Nogal y Churrinche. Los niveles de la Condición Hídrica fueron control y anegado. Los niveles de la fuente de variación del Ambiente fueron julio y agosto.

El modelo No. 1 utilizado es un modelo lineal general. La representación y la definición de sus componentes son los siguientes:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + R_j + A_k + (GR)_{ij} + (GA)_{ik} + (RA)_{jk} + (GRA)_{ijk} + \epsilon_{ij}, \text{ donde:}$$

Y_{ijk} = Variable aleatoria observada en el i-esimo genotipo, j-esimo nivel de riego y k-esimo ambiente

μ = Media general "conceptual"

G_i = Efecto del i-esimo nivel del genotipo

R_j = Efecto del j-esimo nivel de riego

A_k = Efecto del k-esimo nivel de ambiente

$(GR)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i-esimo nivel del genotipo y del j-esimo nivel del riego

$(GA)_{ik}$ = Efecto de la interacción del i-esimo nivel del genotipo y del k-esimo nivel del ambiente.

$(RA)_{jk}$ = Efecto de la interacción del j-esimo nivel de riego y k-esimo nivel del ambiente.

$(GRA)_{ijk}$ = Efecto de la interacción del i-esimo nivel del genotipo, j-esimo nivel de riego y k-esimo nivel del ambiente.

ϵ_{ijk} = Variable aleatoria no observada, termino de error aleatorio asociado a la observación Y_{ijk} .

En los casos en que fuera necesario observar el comportamiento de los ambientes en forma individual se procedió a utilizar el modelo lineal No.2 para cada ambiente. Representación del modelo No. 2: $Y_{ij} = \mu + G_i + R_j + (GR)_{ij} + \epsilon_{ij}$

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial. La unidad experimental consistió en una maceta con 3 plantas. Cada tratamiento se repitió 4 veces (4 macetas por cada tratamiento). Los tratamientos que se realizaron en cada ambiente fueron todas las combinaciones de los niveles de las fuentes de variación.

4. RESULTADOS

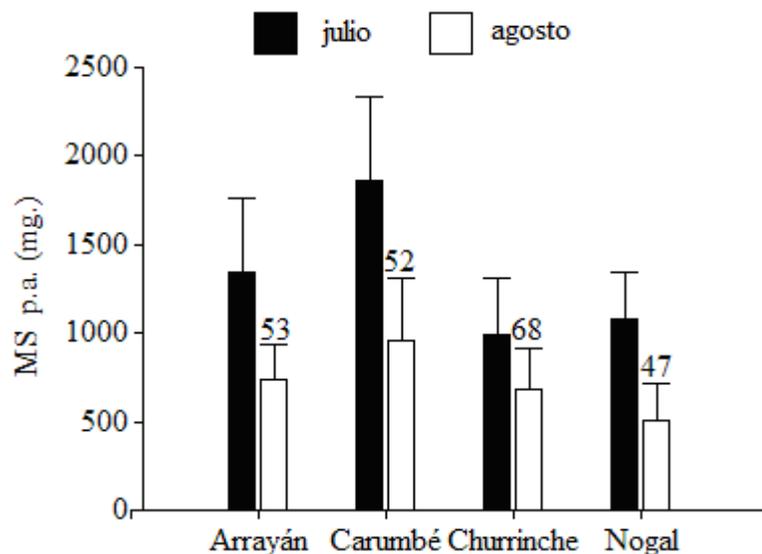
4.1 CRECIMIENTO

La materia seca acumulada en la parte aérea fue diferente de acuerdo a la Variedad, Condición Hídrica y Ambiente, existiendo interacciones significativas entre V*A y CH*A. El crecimiento en raíz presentó los mismos efectos significativos anteriores con la excepción de la interacción V*A. Para la materia seca total acumulada todos los efectos de variación fueron significativos a excepción de la triple interacción. Por el contrario para la relación parte aérea/raíz únicamente fue significativo el efecto de Condición Hídrica (Cuadro No. 2, ver Anexo 1).

Cuadro 2. P valor para la Materia Seca (MS) (mg.) en parte aérea (p.a.), raíz, total de la planta y en la relación (p.a.)/raíz de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	MS parte aérea	MS raíz	MS total	MS p.a./MS Raíz
Variedad (V)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3363
Condición Hídrica (CH)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005
Ambiente (A)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2496
V*CH	0,1631	0,0517	0,0473	0,7738
V*A	0,0128	0,0903	0,0149	0,867
CH*A	0,0445	0,0020	0,0032	0,818
V*CH*A	0,8241	0,5582	0,7518	0,6071

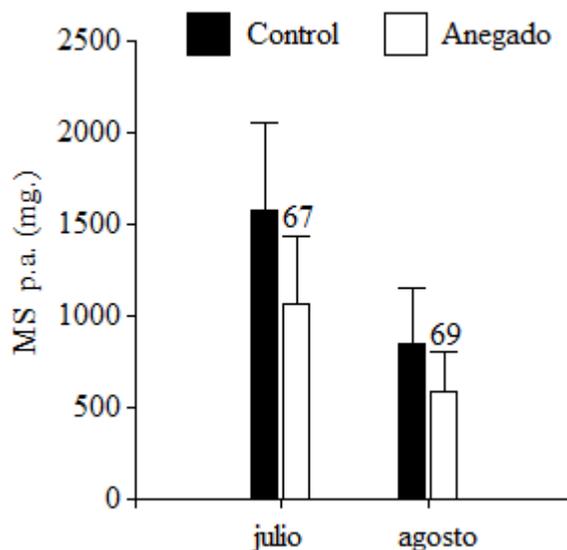
Para el promedio de las variedades y condiciones hídricas la MS acumulada en parte aérea fue mayor en el ensayo sembrado en julio que el sembrado en agosto. En ambas épocas de siembra, las variedades de cebada presentaron en promedio mayor crecimiento que las variedades de trigo ($P < 0,0001$ y $P = 0,0058$, julio y agosto respectivamente), según contrastes ortogonales. En la siembra de julio Carumbé creció más en parte aérea que Arrayán ($P = 0,0001$), en cambio en agosto crecieron igual (Figura No. 2).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 2. Materia Seca (MS) en parte aérea (p.a.) (mg.) para cada variedad en el ambiente de julio y agosto, en promedio de ambas condiciones hídricas

La MS en parte aérea disminuyó en control y anegado en la siembra de agosto respecto a la de julio ($P < 0,0001$ en ambas condiciones hídricas). La condición control fue mayor que anegado ($P < 0,0001$ y $P = 0,0030$, julio y agosto respectivamente), siendo la diferencia entre control y anegado de 515,1 y 267,9 mg. en julio y agosto respectivamente (Figura No. 3).

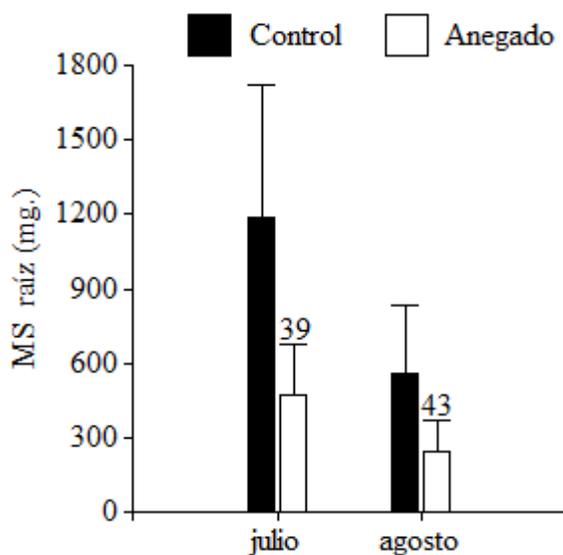


Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 3. MS en parte aérea (mg.) en promedio de las cuatro variedades, en cada condición hídrica y en cada ambiente

En promedio de los ambientes y condiciones hídricas las variedades de cebada en promedio acumularon mayor materia seca en raíz que las variedades de trigo (793,5 vs. 435,78 mg. respectivamente).

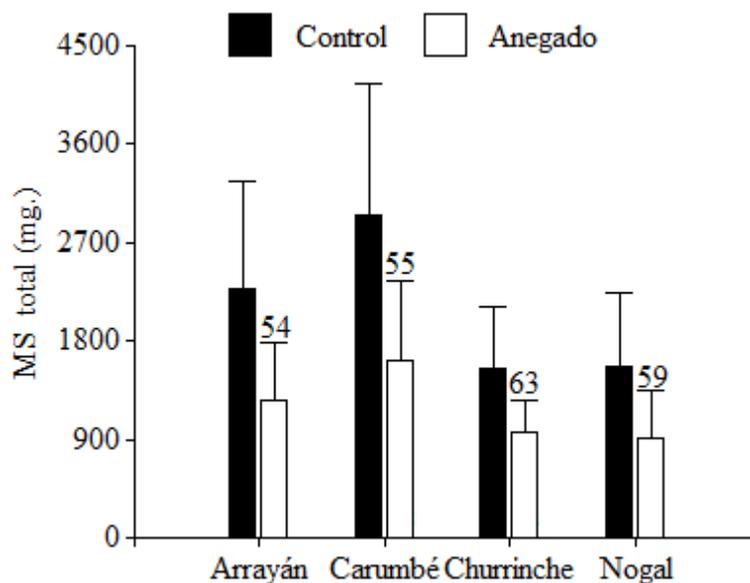
La acumulación de MS en raíz en la siembra de julio en promedio fue mayor que en la siembra de agosto. Según contrastes ortogonales ambas condiciones hídricas disminuyeron su crecimiento en la siembra de agosto respecto a la de julio ($P < 0,0001$ y $P = 0,0120$, control y anegado respectivamente). La condición control presentó mayor MS en raíz que en anegado ($P < 0,0001$ y $P = 0,0008$, julio y agosto respectivamente), siendo la diferencia entre control y anegado de 719,75 y 314 mg, julio y agosto respectivamente (Figura No. 4).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 4. MS en raíz (mg.) en promedio de las cuatro variedades, en cada condición hídrica y en cada ambiente

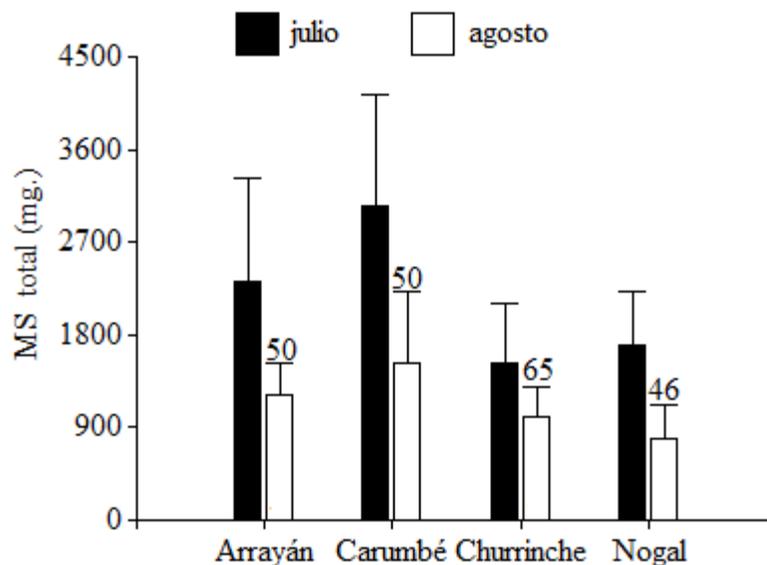
La acumulación de materia seca total fue menor en condición anegada que en control para el ambiente promedio. Todas las variedades disminuyeron su crecimiento en anegado respecto a control de acuerdo a contrastes ortogonales. La variedad Carumbé en control presentó mayor MS total en la planta entera que Arrayán ($P=0,0023$, según contrastes). En cambio entre estas dos variedades en condición anegada no hubo diferencia en su crecimiento total. Las variedades de cebada presentaron en promedio mayor MS total que los trigos ($P=0,0031$ y $P<0,0001$, anegado y control respectivamente). La diferencia promedio entre las cebadas y los trigos fue de 474,25 y 1055,5 mg., en anegado y control respectivamente. La interacción V*CH fue significativa en promedio de ambos ambientes, no así para los ambientes individuales (Figura No. 5).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 5. MS total (mg.) para el promedio de ambos ambientes, en cada variedad y en cada condición hídrica

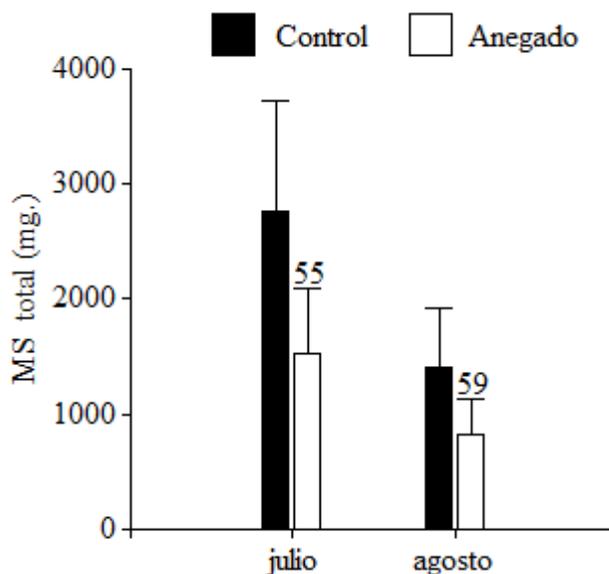
La MS total acumulada en promedio fue mayor en la siembra de julio que en la siembra de agosto. Las variedades de cebada presentaron en promedio más MS total que los trigos ($P < 0,0001$ y $P = 0,0041$, julio y agosto respectivamente). La variedad Carumbé acumuló más MS total que Arrayán ($P = 0,0013$) en la fecha de siembra temprana, en la siembra de agosto fueron iguales (Figura No. 6).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 6. MS total (mg.) en cada variedad y en cada ambiente, en promedio de ambas condiciones hídricas

La MS total disminuyó en ambas condiciones hídricas en la siembra de agosto respecto a la de julio ($P < 0,0001$, en ambas condiciones). La MS total en condición control fue mayor que en anegado ($P < 0,0001$ y $P = 0,0004$, julio y agosto respectivamente). La diferencia entre control y anegado fue de 1234,81 y 574,44 mg, en julio y agosto respectivamente (Figura No. 7).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 7. MS total (mg.) en promedio de las cuatro variedades, en cada condición hídrica y en cada ambiente

En parte aérea/raíz el efecto de la condición hídrica solo fue significativo en la siembra de julio ($P < 0,0001$), siendo mayor la relación en condición anegada que control (2,38 vs. 1,44 mg. respectivamente).

4.2 CONTENIDO DE NITRÓGENO TOTAL

El porcentaje de N total en raíz fue diferente de acuerdo a la Condición Hídrica y Ambiente. La acumulación de N total en raíz presentó los mismos efectos significativos anteriores además del efecto de Variedad e interacción V*A. Para el porcentaje de N total en parte aérea fueron significativos los efectos de Variedad, Condición Hídrica e interacción V*CH. Mientras que para la cantidad de N total en parte aérea fueron significativos los efectos de Variedad, Condición Hídrica y Ambiente. En cambio para la relación N total parte aérea (mg.)/N total raíz (mg.) los efectos de Variedad y Ambiente fueron significativos y para el N total en planta entera (mg.) fueron significativos los efectos de Variedad, Condición Hídrica, Ambiente, interacciones V*A y CH*A (Cuadro No. 3, ver Anexo 2).

Cuadro 3. P valor para el porcentaje de N total en parte aérea, raíz, cantidad de N total en parte aérea, raíz, relación entre estos y cantidad de N total en planta entera (p.e.) de acuerdo al ANAVA

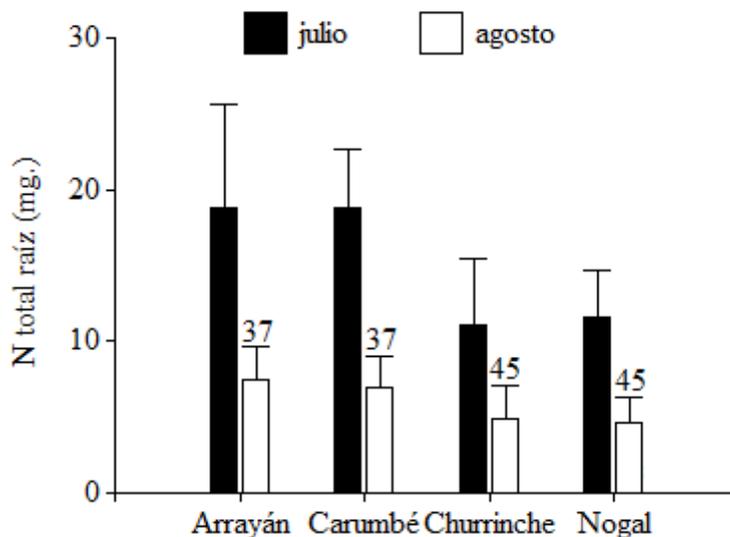
Fuente de variación	N raíz (%)	N raíz (mg.)	N p.a. (%)	N p.a. (mg.)	N p.a./ N raíz	N (p.e.) (mg.)
V	0,2554	<0,0001	0,0003	<0,0001	0,0460	<0,0001
CH	<0,0001	0,0013	<0,0001	<0,0001	0,0731	<0,0001
A	0,0142	<0,0001	0,7556	<0,0001	0,0026	<0,0001
V*CH	0,2995	0,2966	0,0001	0,7991	0,2324	0,5748
V*A	0,8583	0,0322	0,5800	0,0659	0,5556	0,0320
CH*A	0,1575	0,1373	0,3038	0,0527	0,9996	0,0433
V*CH*A	0,8062	0,6161	0,5750	0,9534	0,5666	0,8581

La fecha de siembra de julio concentró mayor N en raíz que en el ambiente de agosto (2,20 vs. 1,84 % respectivamente, Cuadro No. 3). El % de N en raíz fue diferente según la condición hídrica en ambos ambientes, siendo mayor en condición anegada que en control (2,86 vs. 1,53 % y 2,30 vs. 1,38 %, julio y agosto respectivamente, Cuadro No. 4).

Cuadro 4. P valor para el porcentaje de N total en raíz, para cada ambiente, de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	N raíz (%)	
	julio	Agosto
Variedad	0,3749	0,5766
Condición Hídrica	<0,0001	0,0004
V*CH	0,2281	0,7891

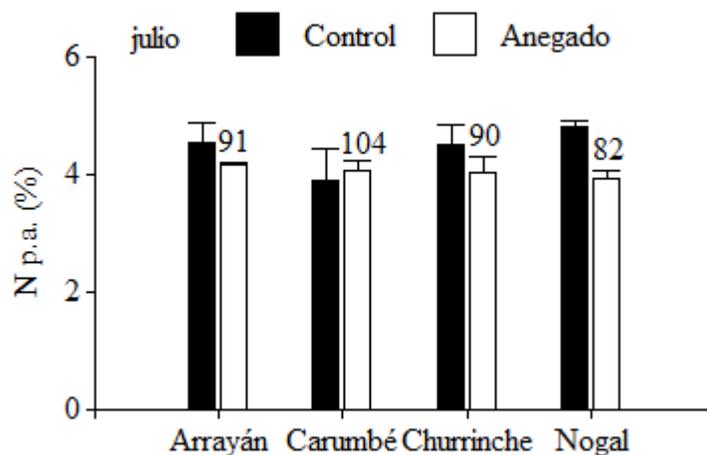
En cantidad de N en raíz la condición hídrica fue significativo para las dos fechas de siembra, (P=0,0121 y P=0,0319, julio y agosto respectivamente), siendo siempre anegado menor que control (Cuadro No. 3), (13,01 vs. 17,11 mg. en julio y 5,18 vs. 6,77 mg. en agosto). La cantidad de N en raíz en promedio fue mayor en el ambiente de julio que en agosto. Las variedades de cebada en promedio acumularon más cantidad de N en raíz que los trigos (P<0,0001 y P=0,0451, julio y agosto respectivamente), de acuerdo a contrastes ortogonales (Figura No. 8).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

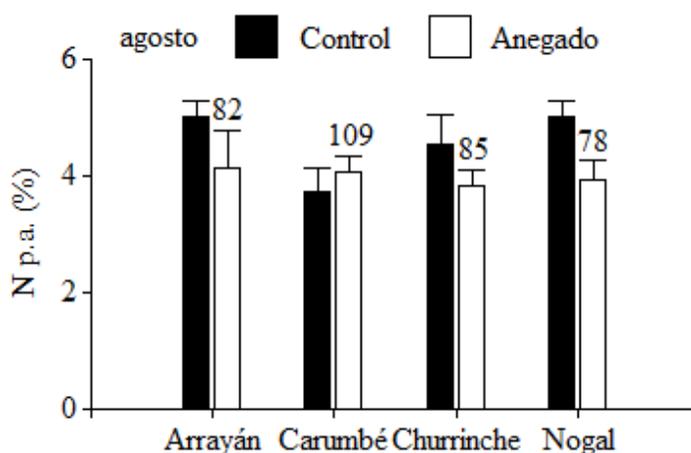
Figura 8. N total en raíz (mg.) en cada variedad y en cada ambiente, en el promedio de ambas condiciones hídricas

Para la concentración de N en parte aérea la interacción V*CH fue significativo en ambas fechas de siembra ($P=0,0184$ y $P=0,0064$, julio y agosto respectivamente). Según contrastes ortogonales, cada ambiente presentó en promedio mayor % de N en parte aérea en control que en anegamiento ($P=0,0014$ y $P=0,0004$, julio y agosto respectivamente). En la siembra temprana, Nogal disminuyó el % de N en parte aérea en condición anegada respecto a control ($P=0,0005$), mientras en siembras tardías las variedades Arrayán, Churrinche y Nogal disminuyeron en anegamiento respecto a condición control ($P=0,0067$, $P=0,0193$ y $P=0,0006$, respectivamente). En condición control, los trigos en promedio concentraron más N en parte aérea que las cebadas ($P=0,0064$ y $P=0,0478$, julio y agosto respectivamente), en cambio en anegado no hubo diferencias entre los trigos y cebadas en promedio en ningún ambiente (Figuras No. 9 y No. 10).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 9. Porcentaje de N total en parte aérea para cada variedad y en cada condición hídrica, en el ambiente de julio



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 10. Porcentaje de N total en parte aérea para cada variedad y en cada condición hídrica, en el ambiente de agosto

La acumulación de N en parte aérea en la siembra temprana fue mayor que en la siembra de agosto (55,84 vs. 30,68 mg respectivamente, Cuadro No. 3). Para la misma variable fueron significativos los efectos de Variedad y Condición Hídrica en la

siembra de julio mientras que en la fecha de siembra tardía el único efecto significativo fue Condición Hídrica (Cuadro No. 5).

Cuadro 5. P valor de la cantidad de N total en parte aérea para cada ambiente de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	N total parte aérea (mg.)	
	julio	Agosto
Variedad	0,0008	0,0707
Condición Hídrica	<0,0001	0,0004
V*CH	0,9351	0,7387

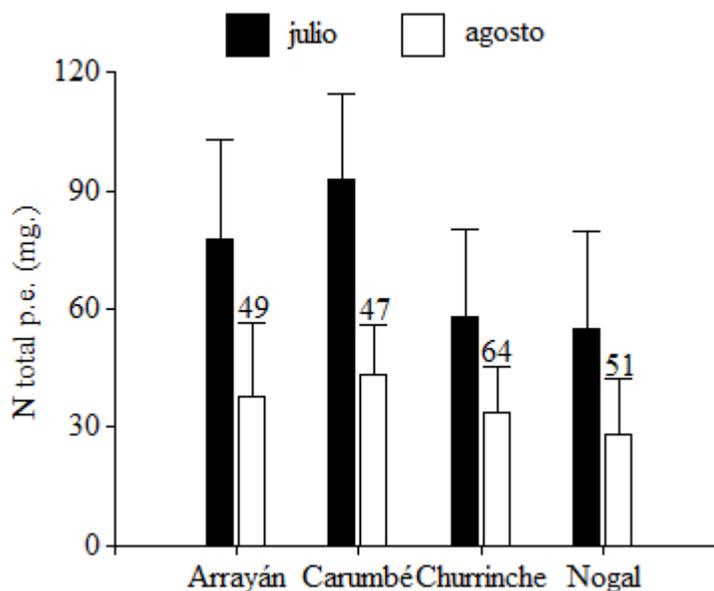
La acumulación de N en parte aérea fue mayor en el promedio de las variedades de cebada que en las variedades de trigos en la siembra temprana. La condición anegada acumuló menos cantidad de N en parte aérea que control en ambos ambientes (42,69 vs. 68,98 mg. en julio y 23,38 vs. 37,98 mg. en agosto).

La relación N parte aérea (mg.)/N raíz (mg.) fue menor en la fecha de siembra de julio que en el ambiente de agosto (3,78 vs. 5,44 respectivamente, Cuadro No.3). Continuando con la misma variable, el efecto de la Condición Hídrica fue significativo únicamente para la fecha de siembra temprana, siendo la relación menor en condición anegada respecto a control (3,30 vs. 4,26 respectivamente, Cuadro No. 6).

Cuadro 6. P valor para N total en parte aérea (mg.)/N total en raíz (mg.) en los ambientes de julio y agosto de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	N total parte aérea (mg.)/N total raíz (mg.)	
	julio	Agosto
Variedad	0,3090	0,1137
Condición Hídrica	0,0308	0,3073
V*CH	0,7091	0,2579

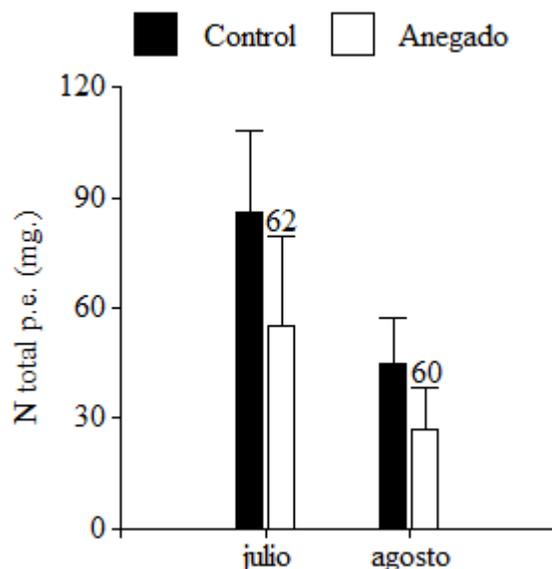
La acumulación de N en planta entera en promedio fue mayor en la siembra de julio que en el ambiente de agosto. De acuerdo a contrastes ortogonales en la siembra temprana las variedades de cebada presentaron en promedio mayor cantidad que los trigos ($P < 0,0001$) y Carumbé acumuló más N en planta entera que Arrayán ($P = 0,0405$). En la siembra de agosto el efecto de la Variedad no fue significativo (Figura No. 11).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 11. Cantidad de N total en planta entera (p.e.) en las cuatro variedades y en ambos ambientes, en promedio de ambas condiciones hídricas.

La acumulación de N en planta entera disminuyó en ambas condiciones hídricas en la siembra de agosto respecto a la siembra de julio ($P < 0,0001$, en ambas condiciones). La condición control acumuló más N en planta entera que la condición anegado ($P < 0,0001$ y $P = 0,0009$, julio y agosto respectivamente). La diferencia entre control y anegado fue de 32,09 y 17,75 mg, en julio y agosto respectivamente (Figura No. 12).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 12. Cantidad de N total en planta entera en cada condición hídrica y en cada ambiente, en promedio de las cuatro variedades.

4.3 CONTENIDO DE NITRATO

La concentración de NO_3^- en parte aérea fue diferente únicamente de acuerdo al Ambiente. La cantidad de NO_3^- en parte aérea presentó efectos significativos de Variedad, Condición Hídrica y Ambiente. Para la $[\text{NO}_3^-]$ en raíz fueron significativos los efectos de Variedad, las interacciones $V*CH$ y $CH*A$. En cambio para la cantidad de NO_3^- en raíz todos los efectos fueron significativos. Mientras que para la relación NO_3^- parte aérea (mg.)/ NO_3^- raíz (mg.) fueron significativos los efectos de Variedad, Ambiente, $V*A$ y $V*CH*A$, (Cuadro No.7).

Cuadro 7. P valor de la concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea, en raíz y de la relación de estos dos últimos, de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	$[\text{NO}_3^-]$ p.a.	NO_3^- p.a. (mg.)	$[\text{NO}_3^-]$ raíz	NO_3^- raíz (mg.)	NO_3^- p.a./ NO_3^- raíz
Variedad	0,6911	0,0030	<0,0001	0,0101	0,0002
Condición Hídrica	0,1136	0,0133	0,1246	<0,0001	0,1459
Ambiente	0,0441	0,0046	0,1261	<0,0001	<0,0001
V*CH	0,1221	0,8057	0,0080	0,0003	0,1500
V*A	0,4633	0,2525	0,2937	0,0123	0,0157
CH*A	0,3434	0,7004	0,0451	<0,0001	0,1628
V*CH*A	0,1227	0,5502	0,5326	0,0049	0,0148

La $[\text{NO}_3^-]$ en parte aérea fue menor en la siembra de julio respecto a la siembra de agosto. En cambio la acumulación de NO_3^- fue mayor en la siembra de julio respecto al ambiente de agosto (Cuadro No. 8).

Cuadro 8. Comparación de medias en concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea ,para el ambiente de julio y agosto, en promedio de todas las variedades y condiciones hídricas

Ambiente	$[\text{NO}_3^-]$ parte aérea	NO_3^- parte aérea (mg.)
Julio	0,20 b	17,62 a
Agosto	0,25 a	11,03 b

Letras diferentes dentro de la misma columna son medias diferentes al $p < 0,05$

Para la concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea únicamente fue significativo el efecto de Condición Hídrica para la siembra de agosto (Cuadro No. 9).

Cuadro 9. P valor de la concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea, para los ambientes de julio y agosto de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	julio		agosto	
	$[\text{NO}_3^-]$ p.a.	NO_3^- p.a. (mg.)	$[\text{NO}_3^-]$ p.a.	NO_3^- p.a. (mg.)
Variedad	0,4956	0,0632	0,9353	0,0830
Condición Hídrica	0,7278	0,3230	0,0206	0,0003
V*CH	0,2188	0,7779	0,6090	0,5121

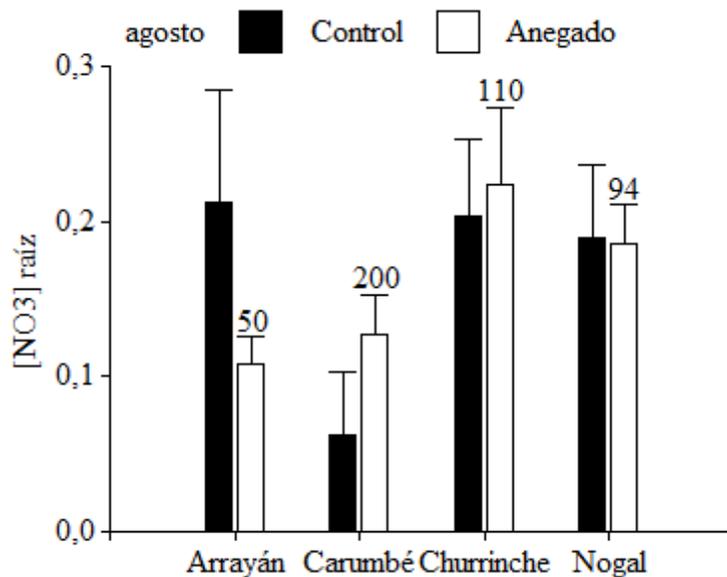
La concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea en condición anegado fue menor que en condición control, para la siembra de agosto (Cuadro No.10).

Cuadro 10. Comparación de medias en concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea, en el ambiente de agosto, para la fuente de variación condición hídrica.

Condición Hídrica	$[\text{NO}_3^-]$ p.a.	NO_3^- p.a. (mg.)
Control	0,27 a	14,30 a
Anegamiento	0,22 b	7,75 b

Letras diferentes dentro de la misma columna son medias diferentes al $p < 0,05$

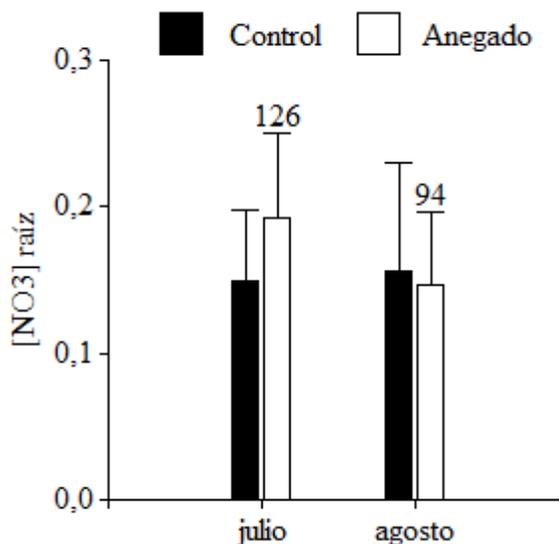
Para la $[\text{NO}_3^-]$ en raíz, la interacción V*CH fue significativa solamente para agosto ($P=0,0069$). De acuerdo a contrastes ortogonales la variedad Carumbé aumentó la $[\text{NO}_3^-]$ raíz en anegado respecto a control ($P=0,0487$), Arrayán disminuyó en anegado ($P=0,0029$) y las variedades de trigo mantuvieron un valor constante. Las diferencias entre control y anegado fueron de 0,06 y 0,10 $\mu\text{moles NO}_3^-/\text{mg}$. MS raíz, Carumbé y Arrayán, respectivamente. No hubo diferencias entre la condición control y anegado en promedio. Los trigos en promedio presentaron mayor $[\text{NO}_3^-]$ en raíz que las cebadas ($P=0,0010$ y $P=0,0121$, anegado y control respectivamente, Figura No. 13).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 13. Concentración de NO_3^- en raíz para cada variedad y en cada condición hídrica, en el ambiente de agosto

La $[\text{NO}_3^-]$ en raíz en condición anegada disminuyó en agosto respecto a julio ($P=0,0148$), de acuerdo a contrastes ortogonales. La $[\text{NO}_3^-]$ raíz en anegado fue mayor que en control ($P=0,0128$) en las siembras tempranas, siendo la diferencia entre estos de $0,04 \mu\text{moles NO}_3^-/\text{mg. MS raíz}$. En cambio en las siembras tardías no existieron diferencias (Figura No. 14).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 14. Concentración de NO_3^- en raíz en cada condición hídrica y en cada ambiente, en el promedio de las cuatro variedades

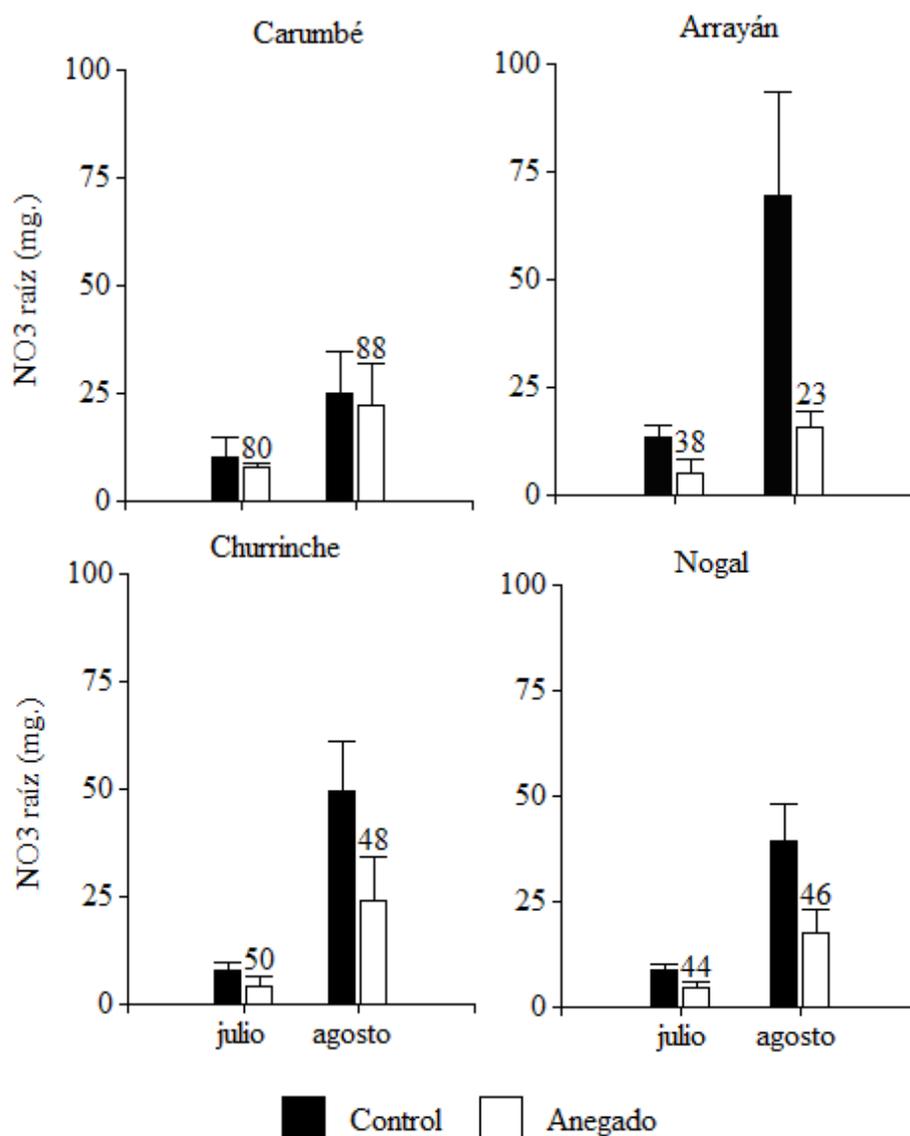
La acumulación de NO_3^- de la raíz en siembra tardía fue mayor en control que anegado, salvo en Carumbé que fueron igual. En cambio en las siembras tempranas no hubo diferencias entre control y anegado en todas las variedades (Figura No. 15).

En la variedad Carumbé, mediante el uso de contrastes ortogonales la siembra de julio representó menor acumulación que agosto ($P=0,0012$), siendo que ambas condiciones hídricas aumentaron su acumulación en agosto respecto a julio ($P=0,0187$ y $P=0,0192$, anegado y control respectivamente). La condición control presentó la misma acumulación que anegado, en las dos fechas de siembra (Figura No. 15, Carumbé).

La cantidad de NO_3^- en raíz en la variedad Arrayán fue menor en la siembra de julio que en agosto ($P<0,0001$), siendo que la condición control aumentó la cantidad de nitrato en la siembra tardía respecto a la siembra temprana ($P<0,0001$). En la siembra de agosto, la condición control acumuló más que en la condición anegado ($P<0,0001$), esta diferencia fue de 53,71 mg (Figura No. 15, Arrayán).

Las variedades Churrinche y Nogal en siembras tempranas acumularon menos NO_3^- en raíz que las siembras tardías, en las dos condiciones hídricas. Esto se confirmó con contrastes ortogonales, para la variedad Churrinche ($P=0,0041$ y $P<0,0001$ anegado y control respectivamente) y en la variedad Nogal ($P=0,0326$ y $P<0,0001$ anegado y control respectivamente). En ambas variedades cuando la siembra fue tardía la

condición control acumuló más cantidad de NO_3^- en raíz que la condición anegado ($P=0,0003$ y $P=0,0008$, Churrinche y Nogal respectivamente), siendo la diferencia de 25,67 y 21,45 mg, Churrinche y Nogal respectivamente (Figura No. 15, Churrinche y Nogal).

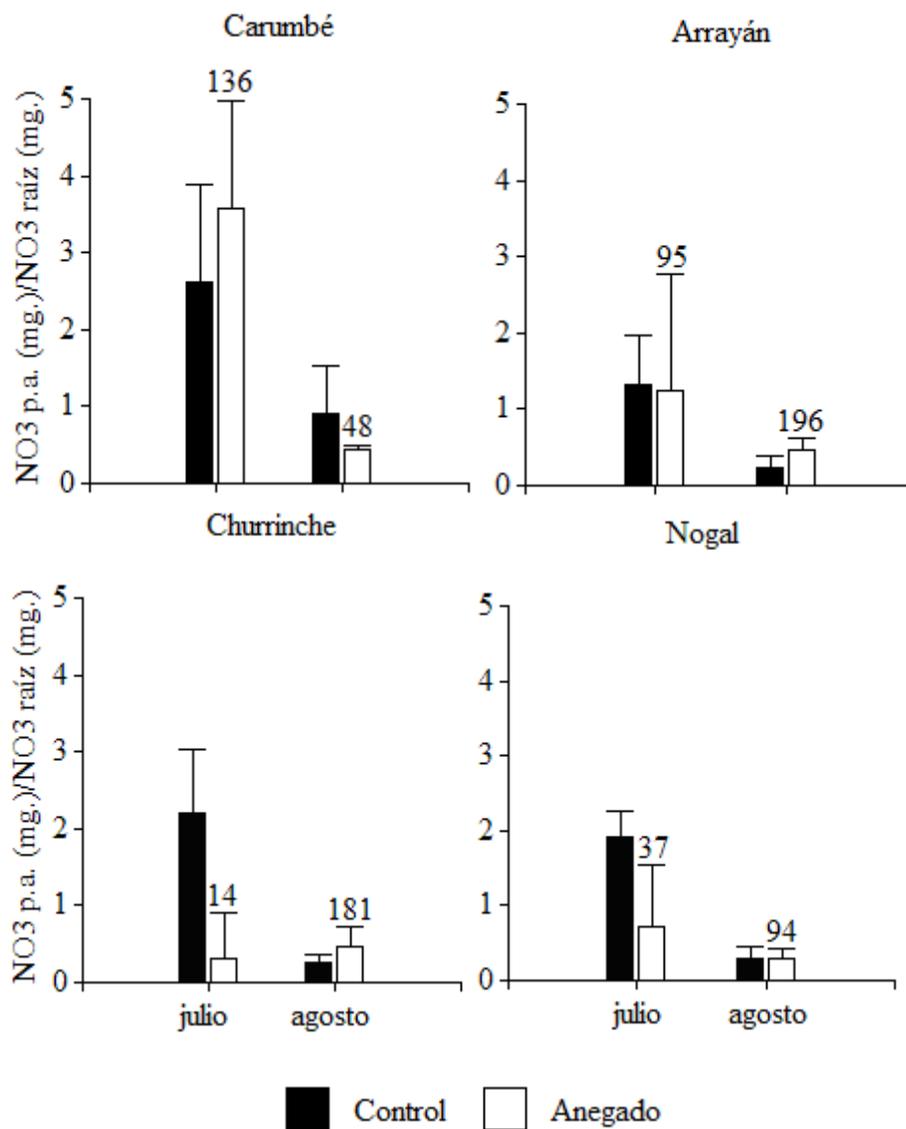


Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 15. Cantidad de NO_3^- en raíz en cada variedad, en cada condición hídrica y en cada ambiente

Para la partición de NO_3^- (NO_3^- p.a. mg./ NO_3^- raíz mg.), las variedades de cebada disminuyeron la relación en la siembra de agosto respecto a julio tanto en control como en anegado, en cambio los trigos solo disminuyeron en control (Figura No. 16). En las variedades Carumbé y Arrayán, según contrastes ortogonales la relación promedio en la siembra temprana fue mayor que en la siembra tardía, ($P < 0,0001$ y $P = 0,0225$, Carumbé y Arrayán respectivamente). En cada fecha de siembra y en ambas variedades, la relación entre anegado y control fue la misma (Figura No. 16, Carumbé y Arrayán).

En las variedades Churrinche y Nogal, la partición de NO_3^- en promedio fue mayor en la siembra temprana que en el ambiente de agosto ($P = 0,0275$ y $P = 0,0101$, Churrinche y Nogal respectivamente), según contrastes ortogonales. En ambas variedades la condición control disminuyó la relación en la siembra tardía respecto a la siembra temprana, no así la condición anegada. También en ambas variedades, en la siembra de julio la condición control fue mayor que la condición anegada, siendo la diferencia entre control y anegado de 1,91 y 1,2 en Churrinche y Nogal respectivamente. En la siembra de agosto no se presentó diferencias entre las condiciones hídricas, en las dos variedades (Figura No. 16, Churrinche y Nogal).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 16. Relación de NO_3^- en parte aérea (mg.) / NO_3^- en raíz (mg.) para cada variedad, en cada condición hídrica y en cada ambiente

4.4 CONTENIDO DE PROLINA

La concentración de prolina fue diferente de acuerdo al efecto de Variedad (Cuadro No. 11, ver Anexo 3).

Cuadro 11. P valor para la concentración de prolina de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	[Prolina]
Variedad	0,0240
Condición Hídrica	0,0625
Ambiente	0,6282
V*CH	0,0700
V*A	0,9109
CH*A	0,1119
V*CH*A	0,8845

La variedad Nogal presentó mayor concentración de prolina que Churrinche (1,79 vs. 0,70 nmoles/g materia fresca, respectivamente), mientras que las variedades Arrayán y Carumbé no se diferenciaron entre sí (1,63 y 1,35 nmoles/g material fresco respectivamente), estas variedades tampoco se diferenciaron de las variedades Nogal y Churrinche.

4.5 CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA a y b

La concentración de clorofila a y b fue diferente de acuerdo al efecto de Variedad, Condición Hídrica, Ambiente e interacción V*CH. Por el contrario en la relación [clorofila a]/[clorofila b] no se encontraron efectos significativos de ninguna de las fuentes de variación (Cuadro No. 12, ver Anexo 4).

Cuadro 12. P valor para la concentración de clorofila a, clorofila b y su cociente de acuerdo al ANAVA

Fuente de variación	[clorofila a]	[clorofila b]	[clorofila a] / [clorofila b]
Variedad	<0,0001	<0,0001	0,3304
Condición Hídrica	0,0081	0,0106	0,2475
Ambiente	<0,0001	0,0001	0,3173
V*CH	0,0143	0,0284	0,3264
V*A	0,3067	0,1952	0,6936
CH*A	0,3122	0,4397	0,4355
A*V*CH	0,1074	0,0852	0,2179

Las concentraciones de clorofila a y b fueron menores en la fecha de siembra temprana respecto a la siembra de agosto (Cuadro No.13).

Cuadro 13. Comparación de medias en concentración de clorofila a y clorofila b, para la fuente de variación Ambiente.

Ambiente	[clorofila a]	[clorofila b]
Julio	13,13 b	6,99 b
Agosto	18,90 a	10,07 a

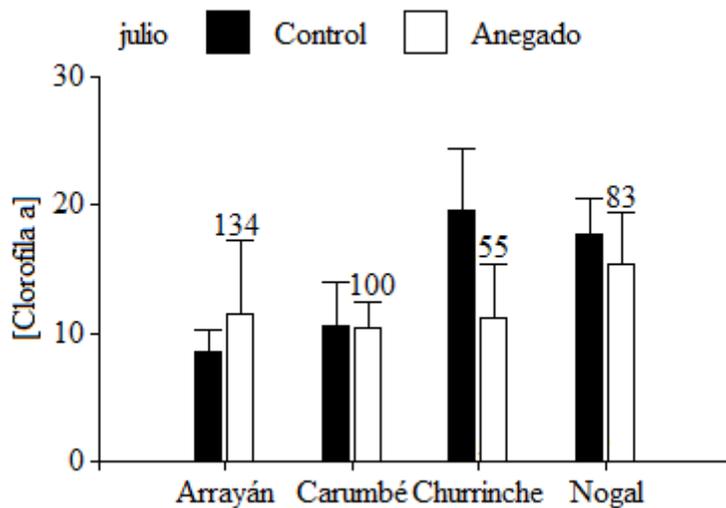
Letras diferentes dentro de la misma columna son medias diferentes al $p < 0,05$

Para la concentración de clorofila a y b en la siembra de julio fueron significativos los efectos de Variedad e interacción V*CH, mientras que para la siembra de agosto fueron significativos la Variedad y Condición Hídrica. La relación [clorofila a]/[clorofila b] no presentó efectos significativos (Cuadro No. 14).

Cuadro 14. P valor para la concentración de clorofila a, clorofila b y su cociente, para los ambientes de julio y agosto de acuerdo al ANAVA

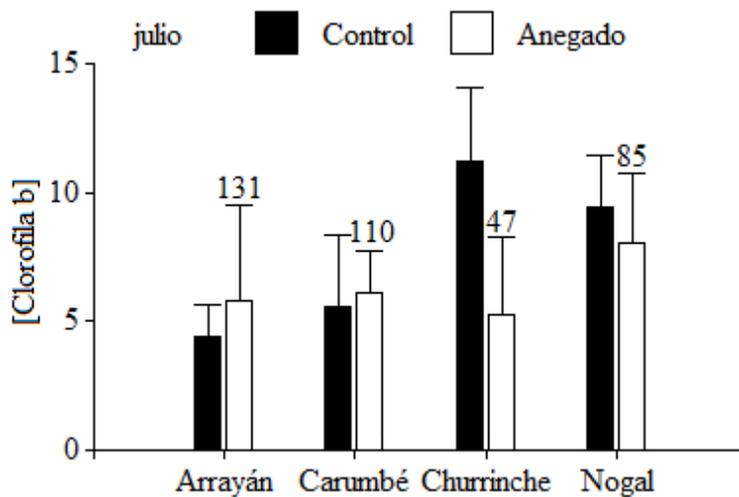
Fuente de variación	[clorofila a]		[clorofila b]		[clorofila a] /[clorofila b]	
	julio	agosto	julio	agosto	julio	Agosto
Variedad	0,0029	0,0011	0,0257	0,0009	0,6598	0,0532
Condición Hídrica	0,1592	0,0265	0,1546	0,0348	0,3072	0,5845
V*CH	0,0413	0,0549	0,0417	0,0791	0,2486	0,6461

De acuerdo a los contrastes ortogonales en la siembra de julio la variedad Churrinche en anegamiento disminuyó la concentración de clorofila respecto a control ($P=0,0045$ y $P=0,0035$, clorofila a y b respectivamente), siendo la diferencia entre control y anegado de 8,37 y 5,93 mg. de clorofila/g hoja fresca, clorofila a y b respectivamente. Las variedades de trigo en promedio presentaron en condición anegada menor clorofila que los trigos en condición control ($P=0,0098$ y $P=0,0093$, clorofila a y b respectivamente). En condición control los trigos en promedio presentaron mayor clorofila que las cebadas ($P=0,0001$ y $P=0,0004$, clorofila a y b respectivamente), en cambio en anegado no hubo diferencias. La diferencia promedio entre los trigos y cebadas en condición control fue de 9,06 y 5,31 mg. clorofila/g hoja fresca, a y b respectivamente (Figuras No. 17 y No. 18).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 17. Concentración promedio de clorofila a en cada variedad y en cada condición hídrica en el ambiente de julio



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 18. Concentración promedio de clorofila b en cada variedad y en cada condición hídrica en el ambiente de julio

En la siembra de agosto para ambas clorofilas, Nogal tuvo la misma concentración que Churrinche pero una mayor concentración que Arrayán y Carumbé, estas últimas no difirieron entre sí (Cuadro No. 15).

Cuadro 15. Comparación de medias en concentración de clorofila a y b, para la fuente de variación Variedad, en la siembra de agosto

Variedades	[clorofila a]	[clorofila b]
Arrayán	16,61 b	8,33 b
Carumbé	14,21 b	7,43 b
Churrinche	19,28 ab	10,19 ab
Nogal	25,50 a	14,33 a

Letras diferentes dentro de la misma columna son medias diferentes al $p < 0,05$

En la siembra de agosto la condición anegada disminuyó la concentración de clorofila a y b respecto a control en todas las variedades (Cuadro No. 16).

Cuadro 16. Comparación de medias en concentración de clorofila a y b para la fuente de variación condición hídrica, en la siembra de agosto

Condición hídrica	[clorofila a]	[clorofila b]
Control	21,01 a	11,30 a
Anegado	16,79 b	8,84 b

Letras diferentes dentro de la misma columna son medias diferentes al $p < 0,05$

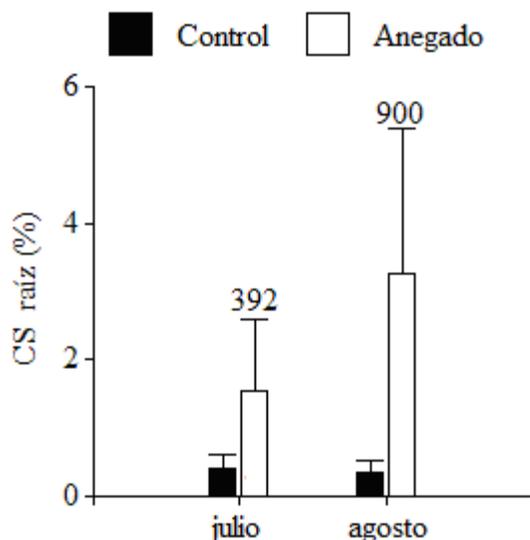
4.6 PORCENTAJE DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES

El porcentaje de carbohidratos solubles totales en raíz fue diferente de acuerdo a los efectos de Condición Hídrica, Ambiente e interacción CH*A. El porcentaje de CS en parte aérea presentó los mismos efectos significativos anteriores pero también los efectos significativos de Variedad e interacción V*A. Mientras que para la relación CS parte aérea (%)/CS raíz (%) fueron significativos los efectos de Condición Hídrica, Ambiente e interacción CH*A (Cuadro No. 17, ver Anexo 5).

Cuadro 17. Análisis de varianza para el porcentaje de Carbohidratos Solubles (CS) en raíz, parte aérea y el cociente entre estos.

Fuente de variación	CS raíz (%)	CS p.a. (%)	CS p.a. (%) / CS raíz (%)
Variedad	0,4191	0,0001	0,2644
Condición Hídrica	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Ambiente	0,0098	<0,0001	0,0122
V*CH	0,7511	0,2186	0,0833
V*A	0,3574	0,0411	0,2568
CH*A	0,0070	0,0260	0,0163
V*CH*A	0,3925	0,9226	0,2327

La variable porcentaje de CS en raíz en promedio fue menor en la siembra de julio que en el ambiente de agosto, siendo que la condición anegada aumentó en la siembra de agosto respecto a julio ($P=0,0005$), de acuerdo a contrastes ortogonales. En esta variable la condición anegada fue mayor a control ($P=0,0079$ y $P<0,0001$, julio y agosto respectivamente). La diferencia entre control y anegado fue de 1,17 y 2,88 % en julio y agosto respectivamente (Figura No. 19).

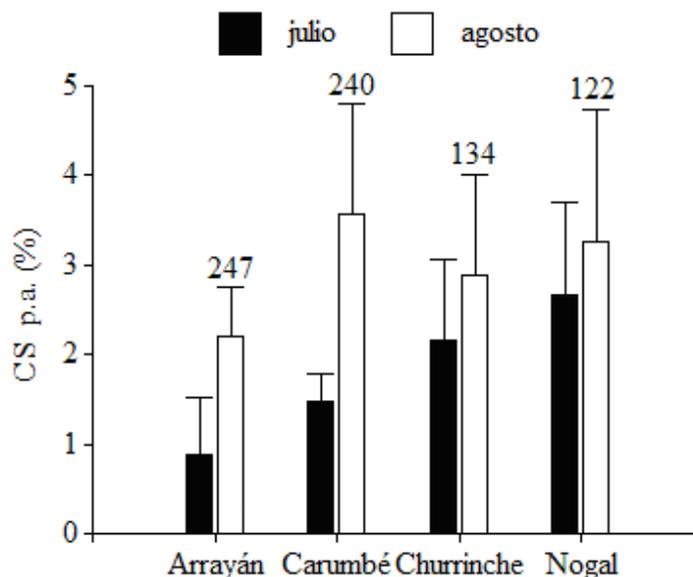


Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 19. Porcentaje de CS en raíz en cada condición hídrica y en cada ambiente, en el promedio de las cuatro variedades

La interacción V*CH no fue significativa para el % de CS en raíz en el promedio de los ambientes (Cuadro No. 17), tampoco para los ambientes individuales de julio y agosto.

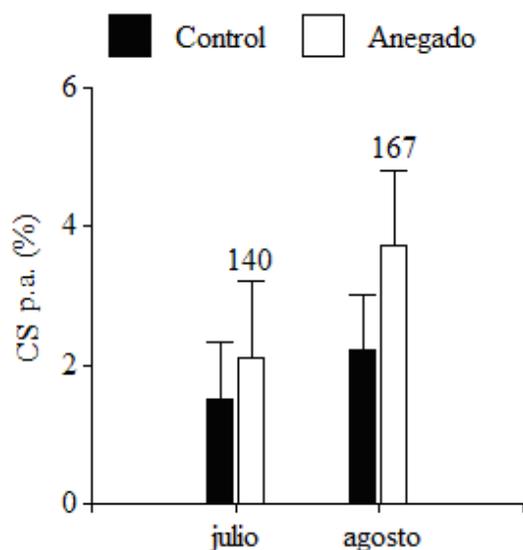
La variable porcentaje de CS en parte aérea en promedio fue menor en la siembra de julio que en el ambiente de agosto. De acuerdo a los contrastes ortogonales las cebadas aumentaron en esta variable en la siembra de agosto respecto al ambiente de julio ($P=0,0015$ y $P<0,0001$, Arrayán y Carumbé respectivamente). En siembra temprana, el % de CS en parte aérea fue menor en las variedades de cebada (en promedio) que los trigos ($P=0,0001$), en cambio en siembra tardía no presentaron diferencias. Las variedades Carumbé y Arrayán fueron iguales en esta variable en la siembra de julio, en la siembra de agosto si presentaron diferencias ($P=0,0011$) (Figura No. 20).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 20. Porcentaje de CS en parte aérea en cada variedad y en cada ambiente, en promedio de ambas condiciones hídricas

Las dos condiciones hídricas aumentaron su % de CS en parte aérea en la siembra tardía respecto a la siembra de julio ($P < 0,0001$ y $P = 0,0112$, anegado y control respectivamente), de acuerdo a contrastes ortogonales. La condición anegada presentó mayor concentración de CS en parte aérea que la condición control en ambos ambientes ($P = 0,0343$ y $P < 0,0001$, julio y agosto respectivamente), siendo la diferencia entre control y anegado de 0,6 y 1,5 % en julio y agosto respectivamente (Figura No. 21).

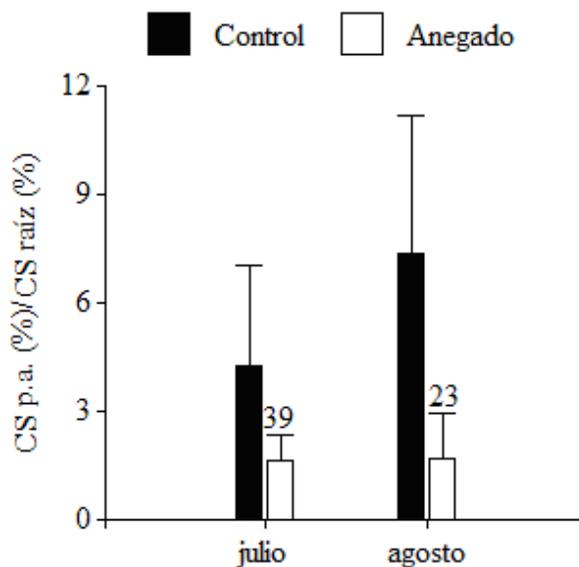


Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 21. Porcentaje de CS en parte aérea en cada condición hídrica y en cada ambiente, en promedio de todas las variedades

La interacción V*CH no fue significativa para el porcentaje de CS en parte aérea en el promedio de los ambientes (Cuadro No. 17), tampoco lo fue para los ambientes de julio y agosto

La partición de CS (CS p.a. %/CS raíz %) en promedio fue menor en la siembra de julio que en el ambiente de agosto. La partición de CS en condición control aumentó en la siembra de agosto respecto a la de julio ($P=0,0005$) según contrastes ortogonales, no así la partición en condición anegada. La condición anegada presentó menor relación que la condición control en ambos ambientes ($P=0,0032$ y $P<0,0001$, julio y agosto respectivamente), siendo la diferencia entre control y anegado de 2,62 y 5,64 en julio y agosto respectivamente (Figura No. 22).



Las líneas sobre las barras indican desvío estándar. Los valores arriba de las barras es relativo al 100 % de sus controles

Figura 22. Relación entre el porcentaje de CS en parte aérea y el porcentaje de CS en raíz para cada condición hídrica y en cada ambiente, en el promedio de las cuatro variedades

La interacción V*CH no fue significativa para la partición de CS en el promedio de los ambientes (Cuadro No. 17), tampoco lo fue para los ambientes de julio y agosto.

5. DISCUSIÓN

En el ambiente de la siembra de julio la tasa de desarrollo fue más lenta y el periodo de crecimiento fue más largo que en el ambiente de la siembra de agosto (66 vs. 53 días, respectivamente). Esto se debió a una menor temperatura promedio en la época de siembra más temprana que en la fecha más tardía (16,34 vs. 17,47°C, respectivamente) y como consecuencia de ello las plantas crecieron más tanto en parte aérea como en raíz en la fecha más temprana de siembra, tanto en condición control como anegado. En ambos ambientes las variedades de cebada crecieron más que las variedades de trigo debido al mayor crecimiento de parte aérea y raíz. En planta entera y parte aérea, la diferencia en MS entre las cebadas y trigos fue mayor en las temperaturas menores. La raíz creció más en cebada que en trigo, en el promedio de ambos ambientes.

Lawton (1946), Hopkins et al. (1950), Leyshon y Sheard (1974), Lambers y Steingrover (1978), Limpinuntana y Greenway (1979), Trought y Drew (1980a), Buwalda (1989), Huang et al. (1994b), Chen et al. (2002), Malik et al. (2003) mencionan que el anegamiento es un factor de estrés para el crecimiento de la parte aérea y raíz. Esto coincidió con el trabajo ya que el anegamiento en los dos ambientes disminuyó el crecimiento de las plantas. La combinación de la mayor temperatura (siembra de agosto) y la condición anegada causó el menor crecimiento en el promedio de todas las variedades, siendo la reducción de 79 % en raíz y de 63 % en parte aérea.

En anegamiento y en ambos ambientes todas las variedades disminuyeron su crecimiento en la MS de la parte aérea, raíz y en la planta entera. También el anegamiento en el promedio de ambos ambientes afectó la MS en planta entera en forma distinta según las variedades, siendo Carumbé la variedad que más se diferenció de su tratamiento control. Esto podría indicar una mayor susceptibilidad de este cultivar al anegamiento coincidiendo con los resultados de Hoffman y Viega (2010). En suelo anegado las variedades de cebada resintieron más el crecimiento de la planta entera que las variedades de trigo.

En anegamiento primero se reduce el crecimiento de la raíz y en días posteriores se evidencia una reducción del crecimiento de la parte aérea, posiblemente relacionado al desequilibrio entre la parte aérea y raíz (Limpinuntana y Greenway, 1979). También coinciden con este concepto Trought y Drew (1980a), Balakhnina et al. (2010). Buwalda (1989) sugiere que el aumento de la relación parte aérea/raíz se debe a una mayor disminución del crecimiento de la raíz que se podría explicar por una escasez de ATP bajo condiciones de déficit de O₂. Esto se confirma en este trabajo porque el efecto del anegamiento en el ambiente de julio aumentó la partición de la materia seca (expresada como el cociente de MS en parte aérea/MS raíz) en todas las variedades. Esto se podría explicar por una mayor disminución del crecimiento de la raíz que de la parte aérea, de igual manera que los autores anteriores.

El crecimiento de la raíz y la parte aérea se correlacionó alta y positivamente con la cantidad de N, en promedio de las dos condiciones hídricas, en el ambiente de julio ($r=0,96$ y $r=0,71$, parte aérea y raíz respectivamente) y en el ambiente de agosto ($r=0,91$ y $r=0,51$, parte aérea y raíz respectivamente). Esto se manifestó en el ambiente de julio (mayor crecimiento) donde la raíz y parte aérea presentaron mayor cantidad de N respecto al ambiente de siembra de agosto en todas las variedades. También en ambos ambientes las variedades de cebada (mayor crecimiento) presentaron mayor N en raíz y parte aérea que las variedades de trigo, a excepción de la parte aérea en agosto (ns). En el ambiente de siembra temprano Carumbé creció más que Arrayán en planta entera y parte aérea presentando Carumbé mayor acumulación de N. Es por esta razón que se podría explicar que en anegamiento (menor crecimiento) en los dos ambientes disminuyó el contenido de nitrógeno en raíz y en parte aérea en todas las variedades respecto al control.

El ambiente de agosto en todas las variedades aumentó la partición de N, (expresado como el cociente de N parte aérea mg./N raíz mg.), respecto al ambiente de fecha de siembra de julio. En el ambiente de siembra de agosto la cantidad de N fue menor en ambas partes de la planta (respecto a la siembra temprano) pero la disminución fue mayor en la raíz que en la parte aérea (60 vs. 45 % respectivamente). Esto puede estar asociado a que la raíz creció menos que la parte aérea en este ambiente, siendo que la parte aérea en el ambiente de agosto disminuyó su crecimiento en el promedio de ambas condiciones hídricas 45% y la raíz 52%. No se encontraron antecedentes bibliográficos respecto a ambientes contrastantes y partición de nitrógeno.

El anegamiento en el ambiente de la siembra temprano disminuyó la partición de N (3,30 y 4,26, anegado y control respectivamente). Esto puede ser explicado porque en el anegamiento disminuyó el N en ambas partes de la planta respecto a control, habiendo mayor reducción de N en parte aérea. Se observó que en el anegamiento disminuyó la cantidad de N en parte aérea en similar magnitud que la MS parte aérea ($r=0,99$), pero el N en raíz disminuyó en una magnitud menor de lo que disminuyó la MS raíz ($r=0,82$). Ello explicaría en anegamiento una mayor concentración de N en raíz respecto al control (2,86 vs. 1,53 % respectivamente). En la condición de estrés por exceso hídrico pero del ambiente de la siembra tardía también fue mayor la concentración de N en raíz que en control en todas las variedades (2,30 vs. 1,38 % respectivamente). Este comportamiento del nitrógeno en condición de anegamiento podría estar indicando cierta dificultad en la translocación hacia la parte aérea como se verá mas adelante. Sintetizando este comportamiento se resalta que la condición de anegamiento en el ambiente de julio disminuyó la partición de N (N parte aérea mg./N raíz mg.) en todas las variedades.

La cantidad de MS en parte aérea y la cantidad de NO_3^- en parte aérea tuvieron una correlación alta y positiva ($r=0,57$ y $r=0,79$, en julio y agosto respectivamente), en promedio de ambas condiciones hídricas. Esto explicaría porque el ambiente de julio presentó mayor cantidad de NO_3^- en parte aérea que agosto. También explicaría porque Carumbé acumuló más cantidad de NO_3^- en parte aérea que Arrayán ($P=0,022$), Churrinche y Nogal ($P=0,006$, ambos) en ambientes y condiciones hídricas promedio, según contrastes ortogonales. En anegamiento el ambiente de siembra de agosto presentó menor crecimiento en parte aérea respecto al control, esto significó una disminución del contenido de NO_3^- en parte aérea en todas las variedades.

El estrés por anegamiento en trigo disminuyó la tasa de absorción de N (Lee 1978, Buwalda 1989), también disminuyó 30 % el transporte de N a la parte aérea (Buwalda, 1989). También otros autores encontraron que en este tipo de estrés disminuye el % N en parte aérea (Rogers y Davies 1973, Trought y Drew 1980b). Lee (1978), Buwalda (1989) en igual sentido obtuvieron menor translocación del NO_3^- a la parte aérea en anegamiento. Por otra parte en el trabajo de Lee (1978), el anegamiento inhibió parcialmente las vías de asimilación de NO_3^- , siendo la causa principal la reducción de nitrato a nitrito. Para los autores Brandao y Sodek (2009) la asimilación de nitrato en raíces podría ser seriamente restringida, ya que la actividad de la enzima nitrato reductasa disminuyó en la raíz en el tratamiento anegado a diferencia de la condición control. En el presente trabajo el anegamiento en el ambiente de la siembra de julio aumentó la concentración de NO_3^- en raíz respecto a control en todas las variedades, quizás por una menor translocación a la parte aérea en anegamiento o por una disminución de la asimilación del NO_3^- en la raíz. En condición de anegamiento en el ambiente de siembra tardía la variedad Arrayán disminuyó la $[\text{NO}_3^-]$ en raíz en cambio Carumbé fue la única variedad que aumentó la $[\text{NO}_3^-]$ en raíz, alcanzando los valores de las otras tres variedades, ello podría implicar que bajo estas condiciones Carumbé no pudo asimilar la misma cantidad de NO_3^- que en la condición control o que se translocó menor cantidad hacia la parte aérea. Esto podría indicar una mayor susceptibilidad de este cultivar en estrés por exceso hídrico coincidiendo con los resultados de Hoffman y Viega (2010).

Continuando con esta hipótesis de la dinámica del nitrógeno pero ahora mirando la parte aérea de la planta ocurrió que el anegamiento en el ambiente de mayor temperatura disminuyó la $[\text{NO}_3^-]$ en parte aérea en todas las variedades respecto al control, también pudiéndose deber a una menor translocación del NO_3^- a parte aérea. En anegamiento el % de N en la parte aérea presentó un comportamiento distinto según las variedades, en el ambiente de siembra temprana Nogal disminuyó el % de N en parte aérea respecto al control pero el % de N fue el mismo para todas las variedades en condición anegada según contrastes ortogonales, mientras en siembras tardías, Arrayán, Churrinche y Nogal disminuyeron en anegamiento pero también todas las variedades presentaron la misma concentración de N en parte aérea.

En el ambiente de la siembra de agosto (en ambas condiciones hídricas) aumentó la cantidad de NO_3^- en raíz (a excepción de Arrayán anegado) respecto al ambiente de julio y disminuyó la MS en raíz, esto explicaría que la asimilación de NO_3^- en raíz fue menor en el ambiente de siembra de agosto (ya que la raíz creció menos pero la cantidad de NO_3^- aumentó) respecto al ambiente de julio. No se encontraron antecedentes bibliográficos de ambientes contrastantes y asimilación de NO_3^- en raíz.

Olgun et al. (2008) en trigo, encontraron diferencias en la concentración de prolina en distintas condiciones hídricas habiendo en anegamiento un incremento en el contenido de prolina. En el presente trabajo la concentración de prolina no se vio afectada por la fecha de siembra ni por la condición de riego, solamente se pudo observar que las variedades mostraron una diferencia intrínseca en su expresión en la concentración de prolina. La concentración de prolina no presentó respuesta al estrés por anegamiento en ninguna de las variedades estudiadas.

Collaku y Harrison (2002), Panga et al. (2004), Olgun et al. (2008), Balakhnina et al. (2010) encontraron que la concentración de clorofila disminuyó en condición anegada. Dicha reducción de la concentración de clorofila fue diferencial según el cultivar considerado (Panga et al., 2004). En el presente trabajo la condición de anegamiento en el ambiente más temprano disminuyó la [clorofila a] y [clorofila b] en la variedad Churrinche respecto a control, de esta manera todas las variedades presentaron la misma concentración de clorofila a y b en anegamiento. Ello podría indicar un mayor efecto de la condición hídrica sobre el efecto del genotipo, ya que en condición control hubo variedades con concentraciones mayores que otras tanto en clorofila a como b. La variedad Churrinche en condiciones de anegamiento fue afectada porque al disminuir su concentración de clorofila probablemente también disminuya la capacidad de absorción y utilización de la radiación. Esto se podría asociar a la susceptibilidad de Churrinche al anegamiento ya sugerida por Hoffman y Viega (2010). En cambio el efecto del estrés por exceso hídrico en el ambiente de siembra más tardío disminuyó la concentración de clorofila a y clorofila b en todas las variedades, ello se explicaría porque el efecto del anegamiento más el efecto de una mayor tasa de desarrollo ocasionaría un efecto más importante en la disminución de clorofila respecto al efecto del anegamiento en el ambiente de siembra de julio.

Limpinuntana y Greenway (1979), Barrett – Lennard et al. (1988) encontraron en anegamiento mayor concentración de azúcares simples en el sistema radicular y en parte aérea. El aumento de los CS en la raíz anegada también fue reportado por varios trabajos como Benjamin y Greenway (1979), Atwell et al. (1985), Huang y Johnson (1995). En este último trabajo para un cultivar de trigo tolerante al exceso hídrico, en anegamiento se incrementó la concentración de sacarosa, fructosa y glucosa en la raíz, mientras que en un cultivar susceptible solo la fructosa aumentó, sugiriendo que el incremento en la partición de carbono a la raíz en anegamiento podría ser una

importante característica adaptativa para la supervivencia de la raíz en hipoxia. Benjamin y Greenway (1979) explicaron por su parte que la acumulación de CS en raíz es consecuencia de la reducción del crecimiento. Atwell et al. (1985) en cambio indica que en condiciones de anegamiento se inhibe la utilización de carbohidratos solubles en raíz. En el presente trabajo el anegamiento aumentó el % de CS en raíz y parte aérea (en ambos ambientes), respecto al control. Ello podría indicar que los CS se utilizaron en menor cantidad en anegamiento.

Con respecto a las distintas hipótesis de los autores anteriores se interpreta que el aumento de la concentración de CS en anegamiento como adaptación para la supervivencia podría darse ya que la producción de energía por fermentación es ineficiente contrastada con la de respiración (fosforilación oxidativa), entonces esto podría aumentar en la célula la tasa de glicólisis para producir ATP necesaria para que la célula pueda sobrevivir y a su vez esto podría incentivar una mayor producción de fotoasimilados. Por otra parte el anegamiento genera una disminución del crecimiento, se podría explicar por una escasez de ATP (Buwalda, 1989), esto podría desencadenar una acumulación de CS (Benjamin y Greenway, 1979), ya que en condición de exceso hídrico la respiración oxidativa es afectada o remplazada por la fermentación utilizándose menos CS, inhibición en la utilización de carbohidratos solubles (Atwell et al., 1985), generándose a su vez energía insuficiente para el crecimiento y otras funciones de la planta y en definitiva los CS se concentran.

El efecto del anegamiento sumado al efecto de la mayor temperatura (segunda fecha de siembra) aumentó aun más el % de CS en raíz y parte aérea, ambos efectos producen un menor crecimiento en la planta lo que podría explicar este aumento de concentración. La partición de CS (CS p.a./CS raíz) disminuyó en anegamiento en todas las variedades. Ello se explicaría por el aumento de la concentración de CS en parte aérea y raíz en condición anegada, pero por un aumento mayor en la concentración de CS en raíz ocasionando una disminución en la partición de los CS en ambos ambientes, sugiriendo una característica adaptativa para la supervivencia de la raíz en anegamiento. En síntesis el estrés por anegamiento en ambos ambientes aumentó la concentración de carbohidratos totales solubles en parte aérea y raíz en todas las variedades y disminuyó su partición en todas las variedades.

En el ambiente de siembra de julio las variedades de cebada acumularon menor concentración de CS en parte aérea que las variedades de trigo, esto se podría explicar por una mayor eficiencia en la utilización de los CS en la parte aérea en las variedades de cebada o porque simplemente la concentración de CS en esas variedades de cebada es genéticamente menor que en las variedades de trigo. En cambio en el ambiente de la segunda fecha de siembra (mayor tasa de desarrollo) todas las variedades concentraron la misma cantidad de CS, por lo tanto en las variedades de trigo no se evidenció un efecto del aumento de temperatura (siembra de agosto) manteniendo el % CS en parte aérea en ambos ambientes, en cambio en las variedades

de cebada si les afectó el aumento de temperatura concentrando mayor cantidad de CS respecto al ambiente de siembra temprana. No se encontraron antecedentes bibliográficos respecto al comportamiento de los carbohidratos solubles totales en ambientes contrastantes.

6. CONCLUSIONES

El anegamiento en ambos ambientes disminuyó el crecimiento de toda la planta, siendo la raíz el órgano de la planta más afectado. En condiciones de estrés por anegamiento en el promedio de ambos ambientes la variedad de cebada caracterizada como susceptible, Carumbé, presentó un menor crecimiento respecto al control que la variedad tolerante, Arrayán,

El estrés por anegamiento en ambos ambientes aumentó el % de N en raíz y disminuyó la cantidad de N en raíz y parte aérea en todas las variedades. Mientras que el anegamiento en el ambiente de siembra de julio aumentó la $[\text{NO}_3^-]$ en raíz y en el ambiente de la siembra de agosto disminuyó la concentración y cantidad de NO_3^- en parte aérea en todas las variedades. En condición de anegamiento en el ambiente de la siembra de agosto la variedad caracterizada como susceptible en cebada (Carumbé) aumentó la $[\text{NO}_3^-]$ en raíz respecto al control a diferencia de las demás variedades. El aumento de la temperatura pudo haber incidido en modificar la dinámica del N y el crecimiento, afectando en consecuencia la respuesta al estrés por anegamiento.

En condiciones de anegamiento en el ambiente de la siembra de julio la variedad caracterizada como susceptible en trigo (Churrinche) presentó un comportamiento diferente en la concentración de clorofila a y b respecto a la variedad caracterizada como tolerante (Nogal), ya que la variedad Churrinche disminuyó la concentración de clorofila a y b respecto a las demás variedades. Mientras que en anegamiento y con el aumento de temperatura disminuyó la concentración de clorofila a y b en todas las variedades.

El anegamiento aumentó el % de CS en la parte aérea y raíz de la planta, pero el aumento fue aún mayor en la raíz.

7. RESUMEN

El presente trabajo se llevo a cabo en la Facultad de Agronomía de la Universidad de la Republica. Se realizaron dos experimentos en invernáculo, los periodos de duración fueron julio - setiembre y agosto - octubre del 2014. Las fuentes de variación fueron variedad, condición hídrica y ambiente y sus niveles fueron Carumbé y Arrayán en cebada, Churrinche y Nogal en trigo, control y anegado, julio y agosto, respectivamente. Las plantas fueron crecidas en condiciones de capacidad de campo hasta el momento de inicio de macollaje, a partir de ese momento se continuó regando la mitad de las unidades experimentales a capacidad de campo y la otra mitad fue mantenida a saturación con una lámina de agua por encima de la superficie del sustrato de aproximadamente 2 cm (anegamiento). La unidad experimental consistió en una maceta con 3 plantas, cada tratamiento se repitió 4 veces. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial. Las variables generales de estudio fueron la MS, nitrógeno total (orgánico e inorgánico), nitrato, prolina, clorofila a, clorofila b y carbohidratos totales solubles en planta. El objetivo del presente trabajo en variedades de trigo y cebada fue identificar variables en plantas en estado temprano del desarrollo que tengan respuestas diferenciales al anegamiento de manera de poder predecir el comportamiento varietal en dichas condiciones de estrés y además caracterizar las respuestas fisiológicas generales a la ocurrencia de dicho factor de estrés. En el trabajo se identificaron efectivamente variables que en condición de anegamiento presentaron respuestas diferentes según la variedad y también se identificaron variables que responden al anegamiento de la misma manera en todas las variedades.

Palabras clave: Trigo; Cebada; Anegamiento; Estrés.

8. SUMMARY

The present work was carried out at the Campus of Agronomy of the University of the Republic. Two experiments were done in greenhouse; the periods of duration were July - September and August - October 2014. The sources of variation were variety, water condition and environment, the levels were Carumbé and Arrayán in barley, Churrinche and Nogal in wheat, control and waterlogged, July and August, respectively. The plants were grown under field capacity conditions until the start of tillering, from that moment half of the experimental units were continued to be irrigated at field capacity and the other half was maintained saturated with a sheet of water above the substrate surface of approximately 2 cm (waterlogging). The experimental unit consisted of a pot with 3 plants. Each treatment was repeated 4 times. Complete Random Design (CRD) was used with factorial arrangement. The general variables of study were the MS, total nitrogen (organic and inorganic), nitrate, proline, chlorophyll a, chlorophyll b and soluble total carbohydrates. The objective of the present work in wheat and barley varieties was to identify variables in plants in an early stage of development that have differential responses to flooding so as to be able to predict varietal behavior in these stress conditions and characterize the general physiological responses to the occurrence of said stress factor. In the work, variables were effectively identified that under waterlogging conditions presented different responses according to the variety and also variables were identified that respond to waterlogging in the same way in all varieties.

Keywords: Wheat; Barley; Waterlogged; Stress.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Al-Sulaiti, A.; Blackwell, R.; Lea, P.; Daies, W. 1990. Capacity for proline accumulation during water deficit and its relation with growth of barley photorespiratory mutants. *Journal of Experimental Botany*. 41: 4-14.
2. Atwell, B. J.; Thomson, C. J.; Greenway, H.; Ward, G.; Waters, I. 1985. A study of the impaired growth of roots of *Zea mays* seedlings at low oxygen concentrations. *Plant, Cell and Environment*. 8:179-188.
3. Balakhnina, T. I.; Bennicelli, R. P.; Stepniewska, Z.; Stepniewski, W.; Fomina, I. R. 2010. Oxidative damage and antioxidant defence system in leaves of *Vicia faba* major L. cv. Bartom during soil flooding and subsequent drainage. *Plant Soil*. 327: 293-301.
4. Barrett-Lennard, E. G.; Leighton, P. D.; Buwalda, F.; Gibbs, J.; Armstrong, W.; Thomson, C. J.; Greenway, H. 1988. Effects of growing wheat in hypoxic nutrient solutions and of subsequent transfer to aerated solutions. I. Growth and carbohydrate status of shoots and roots. *Australian Journal Plant Physiology*. 15: 585-598.
5. Benjamin, L. R.; Greenway, H. 1979. Effects of a range of O₂ concentrations on porosity of barley roots and on their sugar and protein concentrations. *Annals of Botany*. 43: 383 – 391.
6. Brandao, A. D.; Sodek, L. 2009. Nitrate uptake and metabolism by roots of soybean plants under oxygen deficiency. *Brazilian Society of Plant Physiology*. 21 (1): 13-23.
7. Buwalda, F.; Greenway, H. 1989. Nitrogen uptake and growth of wheat during O₂ deficiency in root media containing NO₃⁻ only, or NO₃⁻ plus NH₄⁺. *New Phytology*. 111: 161-166.
8. Cataldo, D.; Haroon, M.; Schrader, L.; Youngs, V. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Soil Science and Plant Analysis*. 6: 71 - 80.
9. Charest, C.; Phan, C. 1990. Cold acclimation of wheat (*Triticum aestivum*); properties of enzymes involved in proline metabolism. *Physiology Plantarum*. 80: 159-168.
10. Chen, H.; Qualls, R. G.; Miller, G. C. 2002. Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting,

aerenchyma formation and ethylene production. *Environmental and Experimental Botany*. 48: 119-128.

11. Chiang, H.; Dandekar, M. 1995. Regulation of proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh during development and in response to desiccation. *Plant Cell Environmental*. 18: 1280-1290.
12. Collaku, A.; Harrison, S. A. 2002. Losses in wheat due to waterlogging. *Crop Science*. 42: 444-450.
13. De la Cruz Jiménez, J.; Moreno, L. P.; Magnitskiy, S. 2012. Respuesta de las plantas a estrés por inundación. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 6(1): 96-109.
14. García-Novo, F.; Crawford, R. M. M. 1973. Soil aeration, nitrate reduction and flooding tolerance in higher plants. *New Phytology*. 72: 1031-1039.
15. Gardner, W. K.; Flood, R. G. 1993. Less waterlogging damage with long season wheats. *Cereal Research Communications*. 21 (4): 337-343.
16. Harsh, N. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in waterstresses wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany*. 50: 253-264.
17. Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. 1950. The water – culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular*. 347: 1-32.
18. Hoffman, E.; Viega, L. 2011. Caracterización preliminar de cultivares de trigo y cebada por su comportamiento al estrés hídrico. In: Castro, A.; Hoffman, E.; Viega, L. eds. *Limitaciones para la productividad de trigo y cebada*. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 53-57.
19. _____.; Arbeletche, P.; Fassana, N.; Locatelli, A.; Gutiérrez, G.; Viega, L.; Castro, A. 2015. Relevamiento del cultivo de cebada cervecera en Uruguay. *Cangüé*. no. 36: 18-22.
20. Hopkins, H. T.; Specht, A. W.; Hendrick, S. B. 1950. Growth and nutrient accumulation as controlled by oxygen supply to plant root. *Plant Physiology*. 25: 193-209.
21. Huang, B.; Johnson, J. W.; Nesmith, S.; Bridges, D. C. 1993. Growth, physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to

- waterlogging and nutrient supply. *Journal of Experimental Botany*. 45 (2):193-202.
22. _____. 1994a. Growth physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to waterlogging and nutrient supply. *Journal of Experiment Botany*. 45: 193-202.
 23. _____. 1994b. Root and shoot growth of wheat genotypes in response of hypoxia and subsequent resumption of aeration. *Crop Sciences Society of America*. 34: 1538-1543.
 24. _____.; Johnson, J. W. 1995. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Annals of Botany*. 75: 427-432.
 25. Kreuzwieser, J.; Furniess, S.; Rennenberg, H. 2002. Impact of waterlogging on the N-metabolism of flood tolerant and non-tolerant tree species. *Plant, Cell and Environment*. 25 (8): 1039–1049.
 26. Lal, R.; Taylor, G. S. 1970. Drainage and nutrient effects in a field lysimeter study; II. Mineral uptake by corn. *Soil Science Society America Proceedings*. 34: 245-248
 27. Lambers, H.; Steingrover, E.1978. Efficiency of root respiration of a flood-tolerant and a flood-intolerant *Senecio* species as affected by low oxygen tension. *Physiology Plantarum*. 42: 179-184.
 28. Lawton, K. 1945. The influence of soil aeration on the growth and absorption of nutrients by corn plants. *Soil Science Society America Proceedings*. 10: 263- 268.
 29. Lee, R. B. 1978. Inorganic nitrogen metabolism in barley roots under poorly aerated conditions. *Journal of Experimental Botany*. 29 (110): 693-708.
 30. Leyshon, A. J.; Sheard, R. W. 1974. Influence of short - term flooding on the growth and plant nutrient composition of barley. *Soil Science*. 54: 463-473.
 31. Limpinuntana, V.; Greenway, H. 1979. Sugar accumulation in barley and rice grown in solutions with low concentrations of oxygen. *Annals of Botany*. 43: 373-381.
 32. McCready, R. M.; Guggolz, J.; Silviera, V.; Owens, H. S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*. 22:1156.

33. McManmon, M.; Crawford, R. M. M. 1971. A metabolic theory of flooding tolerance; the significance of enzyme distribution and behaviour. *New Phytology*. 70: 299-306.
34. Malik, A. I.; Colmer, T. D.; Lambers, H.; Schortemeyer, M. 2003. Aerenchyma formation and radial O₂ loss along adventitious roots of wheat with only the apical root portion exposed to O₂ deficiency. *Plant Cell Environmental*. 26: 1713-1722.
35. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, UY). 2015. Encuesta agrícola “invierno 2016”. Montevideo. 22 p.
36. Olgun, M.; Kumlay, A. M.; Adiguzel, M. C.; Caglar, A. 2008. The effect of waterlogging in wheat (*T. aestivum*). *Soil and Plant Science*. 58:193-198.
37. Panga, J.; Zhoua, M.; Mendhama, N.; Shabalaa, B. S. 2004 Growth and physiological responses of six barley genotypes to waterlogging and subsequent recovery. *Australian Journal of Agricultural Research*. 55(8): 895–906.
38. Perdomo, C.; Barbazán, M. 2010. Nitrógeno. Montevideo, Facultad de Agronomía. 72 p.
39. Pomeroy, M. K.; Aandrews, C. J. 1979. Metabolic and ultrastructural changes associated with flooding at low temperature in winter wheat and barley. *Plant Physiology*. 64(4): 635-639.
40. Ramanjulu, S.; Sudhakar, C. 2000. Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance. *Journal of Plant Physiology*. 157: 81-85.
41. Rogers, J. A.; Davies, G. 1973. The growth and chemical composition of four grass species in relation to soil moisture and aeration factors. *Journal of Ecology*. 61(2): 455-472.
42. Samad, A; Meisner, C. A; Saifuzzaman, M.; Van Ginke, M. 2001. Waterlogging tolerante. In: Reynolds, M. P.; Ortiz – Monasterio, M. I.; McNab, A. eds. *Application of physiology in wheat breeding*. Mexico, CIMMYT. pp. 136-144.
43. Setter, T. L.; Watters, I. 2003. Review of prospect for germoplasma improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant Soil*. 253: 1-34

44. Stewart, G.; Lee, J. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*. 120: 279-289.
45. Troll, W.; Lindsley, J. 1955. A photometric method for the determination of proline. *Journal of Biological Chemistry*. 215: 655-660.
46. Trought, M. C. T.; Drew, M. C. 1980a. The development of waterlogging damage in wheat seedling (*Triticum aestivum* L.) I. Shoot and root growth in relation to changes in the concentrations of dissolved gases and solutes in the soil solution. *Plant and Soil*. 54: 77-94.
47. _____. 1980b. The development of waterlogging damage in young wheat plants in anaerobic solution cultures. *Journal of Experimental Botany*. 31 (125): 1573-1585.
48. _____. 1982. Effects of waterlogging on young wheat plants (*Triticum aestivum* L.) and on soil solutes at different temperatures. *Plant Soil*. 69: 311: 326.
49. Wellburn, A. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Plant Physiology*. 144: 307-313.
50. Yemm, E. W.; Willis, A. J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*. 57: 508-514.

10. ANEXOS

Anexo No. 1.

Variable MS p.a. (mg.)	CV %	F de V.	P-valor	Media							
23	V	< 0,0001	Carumbé	Arrayán	Churrinche	Nogal					
			1410,44 a	1030,94 b	837,06 bc	797,50 c					
			CH	< 0,0001	control	Anegado					
	A	< 0,0001	julio	agosto							
			1318,97 a	719 b							
	V*CH	0,1631	Carumbé-c	Arrayán-c	Carumbé-an	Churrinche-c	Nogal-c	Arrayán-an	Churrinche-an	Nogal-an	
	1714	1236,88	1106,88	966,88	941,13	825	707,25	653,88			
V*A	0,0128	Carumbé-j	Arrayán-j	Nogal-j	Churrinche-j	Carumbé-a	Arrayán-a	Churrinche-a	Nogal-a		
1858 a	1339,63 b	1083,13 bc	995,13 bcd	962,88 bcd	722,25 cde	679 de	511,88 e				
CH*A	0,045	c-julio	an-julio	c-agosto	an-agosto						
1576,50 a				1061,44 b	852,94 b	585,06 c					
MS raíz (mg.)	40	V	< 0,0001	Carumbé	Arrayán	Nogal	Churrinche				
877,19 a				709,75 a	446,50 b	425,06 b					
CH				< 0,0001	control	anegado					
A				< 0,0001	julio	agosto					
					830,56 a	398,69 b					
V*CH	0,0517	Carumbé-c	Arrayán-c	Nogal-c	Churrinche-c	Carumbé-an	Arrayán-an	Churrinche-an	Nogal-an		

				1241,25	1038,88	628,75	583,38	513,13	380,63	266,75	264,25
		V*A	0,0903	Carumbé-j	Arrayán-j	Nogal-j	Carumbé-a	Churrinche-j	Arrayán-a	Churrinche-a	Nogal-a
				1185,63	987,13	619	568,75	530,5	432,38	319,63	274
		CH*A	0,002	c-julio	c-agosto	an-julio	an-agosto				
				1190,44 a	555,69 b	470,69 bc	241,69 c				
MS p.a./	51	V	0,3363	Churrinche	Nogal	Carumbé	Arrayán				
MS raíz				2,44 a	2,10 a	1,94 a	1,78 a				
		CH	0,0005	control	anegado						
				1,57 b	2,56 a						
		A	0,2496	julio	agosto						
				1,91 a	2,22 a						
		V*CH	0,7738	Churrinche-an	Nogal-an	Carumbé-an	Arrayán-an	Churrinche-c	Nogal-c	Carumbé-c	Arrayán-c
				3,17	2,6	2,34	2,14	1,72	1,61	1,53	1,41
		V*A	0,867	Churrinche-a	Nogal-a	Churrinche-j	Nogal-j	Carumbé-a	Arrayán-a	Carumbé-j	Arrayán-j
				2,78	2,14	2,11	2,06	2,04	1,91	1,83	1,65
		CH*A	0,818	agosto-an	julio - an	agosto-c	julio-c				
				2,75	2,38	1,69	1,44				

V: variedad; CH: condición hídrica; A: ambiente; an: anegado; c: control; a: agosto; j: julio.

Anexo No. 2.

Variable	CV %	F de V.	P-valor	Media						
% NT p.a.	8	V	0,0003	Arrayán	Nogal	Churrinche	Carumbé			
				4,47 a	4,42 a	4,23 ab	3,94 b			
	CH	< 0,0001	control	anegado						
				4,51 a	4,02 b					
	A	0,7556	Julio	agosto						
				4,25	4,28					
	V*CH	0,0001	Nogal-c	Arrayán - c	Churrinche-c	Arrayán-an	Carumbé-an	Churrinche-an	Nogal-an	Carumbé-c
4,91 a				4,79 a	4,52 ab	4,15 bc	4,06 bc	3,94 c	3,93 c	3,81 c
V*A	0,58	Arrayán-a	Nogal-a	Nogal-j	Arrayán-j	Churrinche-j	Churrinche-a	Carumbé-j	Carumbé-a	
			4,57	4,46	4,38	4,36	4,27	4,19	3,99	3,89
CH*A	0,3038	agosto-c	Julio-c	julio-an	agosto-an					
			4,57	4,45	4,05	3,99				
% NT raíz	28	V	0,2554	Arrayán	Nogal	Churrinche	Carumbé			
				2,23	2,02	1,99	1,83			
	CH	<0,0001	control	anegado						
				1,45 b	2,58 a					
	A	0,0142	Julio	agosto						
				2,20 a	1,84 b					
	V*CH	0,2995	Arrayán-an	Carumbé-an	Nogal-an	Churrinche-an	Nogal-c	Churrinche-c	Arrayán-c	Carumbé-c
2,9				2,56	2,45	2,42	1,59	1,57	1,57	1,1

	V*A	0,8583	Arrayán-j 2,41	Churrinche-j 2,27	Nogal-j 2,12	Arrayán-a 2,06	Carumbé-j 1,99	Nogal-a 1,92	Churrinche-a 1,72	Carumbé-a 1,66
	CH*A	0,1575	julio-an 2,86	agosto-an 2,3	julio-c 1,53	agosto-c 1,38				
(mg.) NT p.a.	25 V	< 0,0001	Carumbé 55,25 a	Arrayán 46,19 ab	Churrinche 36,89 b	Nogal 35,70 b				
	CH	< 0,0001	control 53,48 a	anegado 33,04 b						
	A	< 0,0001	Julio 55,84 a	agosto 30,68 b						
	V*CH	0,7991	Carumbé-c 65,8	Arrayán-c 58,3	Nogal-c 46,07	Carumbé-an 44,7	Churrinche-c 43,74	Arrayán-an 34,09	Churrinche-an 28,04	Nogal-an 25,32
	V*A	0,0659	Carumbé-j 73,82	Arrayán-j 58,88	Nogal-j 47,7	Churrinche-j 42,94	Carumbé-a 36,68	Arrayán-a 33,51	Churrinche-a 28,84	Nogal-a 23,69
	CH*A	0,0527	c-julio 68,98	an-julio 42,69	c-agosto 37,98	an-agosto 23,38				
(mg.) NT raíz	32 V	<0,0001	Arrayán 13,15 a	Carumbé 12,86 a	Nogal 8,11 b	Churrinche 7,96 b				
	CH	0,0013	control 11,94 a	anegado 9,10 b						
	A	<0,0001	Julio 15,06 a	agosto 5,98 b						
	V*CH	0,2966	Arrayán-c 15,52	Carumbé-c 13	Carumbé-an 12,71	Arrayán-an 10,77	Nogal-c 9,83	Churrinche-c 9,39	Churrinche-an 6,53	Nogal-an 6,38
	V*A	0,0322	Arrayán-j	Carumbé-j	Nogal-j	Churrinche-j	Arrayán-a	Carumbé-a	Churrinche-a	Nogal-a

			18,83 a	18,80 a	11,53 b	11,08 b	7,46 bc	6,91 bc	4,85 c	4,68 c
	CH*A	0,1373	c-julio	an-julio	c-agosto	an-agosto				
			17,11	13,01	6,77	5,18				
N p.a. (mg)/ N raíz (mg.)	44 V	0,046	Churrinche	Carumbé	Nogal	Arrayán				
			5,77 a	4,76 ab	4,34 ab	3,59 b				
	CH	0,0731	control	anegado						
			5,09	4,14						
	A	0,0026	agosto	Julio						
			5,44 a	3,78 b						
	V*CH	0,2324	Churrinche-an	Carumbé-c	Churrinche-c	Nogal-c	Arrayán-c	Carumbé-an	Nogal-an	Arrayán-an
			6,27	5,76	5,27	5	4,33	3,76	3,67	2,84
	V*A	0,5556	Churrinche-a	Carumbé-a	Nogal-a	Churrinche-j	Arrayán-a	Carumbé-j	Nogal-j	Arrayán-j
			7,25	5,54	5	4,3	3,99	3,98	3,67	3,18
	CH*A	0,996	agosto-c	agosto-an	julio-c	julio-an				
			5,92	4,97	4,26	3,3				
[NO₃] p.a.	32 V	0,6911	Carumbé	Arrayán	Churrinche	Nogal				
			0,24	0,22	0,22	0,21				
	CH	0,1136	control	anegado						
			0,24	0,21						
	A	0,0441	agosto	Julio						
			0,25 a	0,20 b						
	V*CH	0,1221	Nogal - c	Churrinche-c	Carumbé-an	Carumbé-c	Arrayán-an	Arrayán-c	Churrinche-an	Nogal-an
			0,26	0,25	0,25	0,23	0,23	0,22	0,19	0,15
	V*A	0,4633	Churrinche-a	Arrayán-a	Carumbé-j	Nogal-a	Carumbé-a	Arrayán-j	Churrinche-j	Nogal-j
			0,25	0,25	0,24	0,24	0,24	0,2	0,19	0,17

	CH*A	0,3434	agosto-c 0,27	agosto-an 0,22	julio-c 0,21	julio-an 0,19				
[NO₃⁻] raíz	29 V	<0,0001	Churrinche 0,20 a	Nogal 0,18 ab	Arrayán 0,15 bc	Carumbé 0,12 c				
	CH	0,1246	control 0,15	anegado 0,17						
	A	0,1261	Julio 0,17	agosto 0,15						
	V*CH	0,008	Churrinche- an 0,21 a	Nogal-an 0,19 ab	Churrinche-c 0,19 ab	Nogal-c 0,17 ab	Arrayán-c 0,17 ab	Carumbé-an 0,15 ab	Arrayán-an 0,13 bc	Carumbé-c 0,08 c
	V*A	0,2937	Churrinche-j 0,20 a	Churrinche-a 0,20 a	Nogal-j 0,19 a	Nogal-a 0,18 a	Arrayán-j 0,15 ab	Arrayán-a 0,15 ab	Carumbé-j 0,15 ab	Carumbé-a 0,09 b
	CH*A	0,0451	julio-an 0,19 a	agosto-c 0,16 a	agosto-an 0,15 a	julio-c 0,15 a				
NO₃⁻ p.a. (mg.)	51 V	0,003	Carumbé 20,98 a	Arrayán 14,09 ab	Churrinche 11,96 b	Nogal 10,28 b				
	CH	0,0133	control 17,18 a	anegado 11,48 b						
	A	0,0046	julio 17,62 a	agosto 11,03 b						
	V*CH	0,8057	Carumbé-c 23,69	Carumbé-an 18,27	Churrinche-c 15,36	Arrayán-c 15,26	Nogal-c 14,39	Arrayán-an 12,91	Churrinche- an 8,57	Nogal-an 6,16
	V*A	0,2525	Carumbé-j 27,81	Arrayán -j 16,96	Carumbé-a 14,15	Churrinche-j 13,5	Nogal-j 12,23	Arrayán-a 11,21	Churrinche-a 10,43	Nogal-a 8,32

	CH*A	0,7004	julio - c 20,05	julio - an 15,2	agosto-c 14,3	agosto-an 7,75				
NO₃⁻ raíz (mg.)	42 V	0,0101	Arrayán 26,01 a	Churrinche 21,43 ab	Nogal 17,53 b	Carumbé 16,34 b				
	CH	<0,0001	control 27,05 a	anegado 12,70 b						
	A	<0,0001	julio 7,76 b	agosto 32,89 a						
	V*CH	0,0003	Arrayán-c 41,49 a	Churrinche - c 28,75 ab	Nogal-c 23,97 bc	Carumbé-c 17,60 bc	Carumbé-an 15,08 c	Churrinche-an 14,10 c	Nogal-an 11,09 c	Arrayán-an 10,53 c
	V*A	0,0123	Arrayán-a 42,74 a	Churrinche-a 36,74 ab	Nogal-a 28,44 b	Carumbé-a 23,64 b	Arrayán-j 9,28 c	Carumbé-j 9,03 c	Nogal-j 6,63 c	Churrinche-j 6,11 c
	CH*A	<0,0001	agosto-c 45,81 a	agosto - an 19,98 b	julio-c 10,10 c	julio-an 5,42 c				
NO₃⁻ p.a. (mg.)/ NO₃⁻ raíz (mg.)	69 V	0,0002	Carumbé 1,88 a	Arrayán 0,82 b	Churrinche 0,81 b	Nogal 0,80 b				
	CH	0,1459	control 1,22	anegado 0,94						
	A	<0,0001	julio 1,74 a	agosto 0,42 b						
	V*CH	0,15	Carumbé-an 2	Carumbé - c 1,76	Churrinche-c 1,23	Nogal-c 1,11	Arrayán-an 0,86	Arrayán-c 0,78	Nogal-an 0,5	Churrinche-an 0,39
	V*A	0,0157	Carumbé-j 3,09 a	Nogal-j 1,31 b	Arrayán-j 1,28 b	Churrinche-j 1,26 b	Carumbé-a 0,67 b	Churrinche-a 0,36 b	Arrayán-a 0,36 b	Nogal-a 0,30 b
	CH*A	0,1628	julio - c	julio - an	agosto-c	agosto-an				

2,01 1,46 0,43 0,42

V: variedad; CH: condición hídrica; A: ambiente; an: anegado; c: control; a: agosto; j: julio.

Anexo No. 3.

Variable	CV %	F de V.	P-valor	Media						
[Prolina]	76	V-s	0,024	Nogal	Arrayán	Carumbé	Churrinche			
				1,79 a	1,63 ab	1,35 ab	0,70 b			
	CH-ns	0,0625	control	Anegado						
				1,12	1,61					
	A-ns	0,6282	julio	Agosto						
				1,43	1,3					
	V*CH-ns	0,07	Nogal-an	Arrayán-an	Arrayán-c	Carumbé-an	Carumbé-c	Nogal-c	Churrinche-an	Churrinche-c
2,65				1,66	1,59	1,37	1,33	0,92	0,77	0,63
V*A-ns	0,9109	Nogal-a	Arrayán-j	Nogal-j	Carumbé-j	Arrayán-a	Carumbé-a	Churrinche-j	Churrinche-a	
			1,86	1,78	1,71	1,5	1,47	1,21	0,72	0,67
CH*A-ns	0,1119	agosto-an	julio-an	julio-c	agosto-c					
			1,76	1,47	1,39	0,84				

V: variedad; CH: condición hídrica; A: ambiente; an: anegado; c: control; a: agosto; j: julio.

Anexo No. 4.

Variable	CV %	F de V.	P-valor	Media							
[clor. a]	28	V	<0,0001	Nogal	Churrinche	Arrayán	Carumbé				
				21,03 a	17,34 ab	13,35 bc	12,35 c				
		CH	0,0081	control	Anegado						
				17,55 a	14,47 b						
		A	<0,0001	julio	Agosto						
				13,13 b	18,90 a						
		V*CH	0,0143	Nogal- c	Churrinche-c	Nogal-an	Arrayán-an	Carumbé-c	Churrinche-an	Arrayán-c	Carumbé-an
				23,86 a	20,22 ab	18,20 abc	15,07 bcd	14,52 bcd	14,46 bcd	11,62 cd	10,17 d
		V*A	0,3067	Nogal-a	Churrinche-a	Arrayán-a	Nogal-j	Churrinche-j	Carumbé-a	Carumbé-j	Arrayán-j
				25,5	19,28	16,61	16,55	15,4	14,21	10,48	10,09
		CH*A	0,3122	agosto-c	agosto - an	julio-c	julio-an				
				21,01	16,79	14,1	12,16				
[clor. b]	34	V	<0,0001	Nogal	Churrinche	Arrayán	Carumbé				
				11,52 a	9,22 ab	6,73 b	6,65 b				
		CH	0,0106	control	Anegado						
				9,48 a	7,58 b						
		A	0,0001	julio	Agosto						
				6,99 b	10,07 a						
		V*CH	0,0284	Nogal-c	Churrinche-c	Nogal-an	Carumbé-c	Arrayán-an	Churrinche-an	Arrayán-c	Carumbé-an
				13,18 a	11,19 ab	9,87 abc	7,77 bc	7,65 bc	7,26 bc	5,80 c	5,53 c
		V*A	0,1952	Nogal-a	Churrinche-a	Nogal-j	Arrayán-a	Churrinche-j	Carumbé-a	Carumbé-j	Arrayán-j

			14,33	10,19	8,72	8,33	8,26	7,43	5,87	5,13
CH*A	0,4397	agosto-c	agosto-an	julio-c	julio-an					
			11,3	8,84	7,67	6,32				

V: variedad; CH: condición hídrica; A: ambiente; an: anegado; c: control; a: agosto; j: julio.

Anexo No. 5.

Variable	CV %	F de V.	P-valor	Media							
C.S. raíz (%)	88	V	0,4191	Nogal	Carumbé	Churrinche	Arrayán				
				1,61	1,58	1,4	0,98				
		CH	<0,0001	control	Anegado						
				0,38 b	2,40 a						
		A	0,0098	julio	Agosto						
				0,98 b	1,80 a						
		V*CH	0,7511	Carumbé-an	Nogal-an	Churrinche-an	Arrayán-an	Nogal-c	Churrinche-c	Carumbé-c	Arrayán-c
				2,78	2,73	2,35	1,76	0,49	0,46	0,38	0,19
		V*A	0,3574	Carumbé-a	Nogal-a	Churrinche-a	Nogal-j	Arrayán-a	Churrinche-j	Carumbé-j	Arrayán-j
				2,43	1,82	1,56	1,4	1,39	1,24	0,73	0,56
		CH*A	0,007	agosto-an	julio-an	julio-c	agosto-c				
				3,24 a	1,57 b	0,40 c	0,36 c				
C.S. p.a. (%)	33	V	0,0001	nogal	churrinche	Carumbé	arrayan				
				2,97 a	2,52 a	2,52 a	1,55 b				
		CH	<0,0001	control	Anegado						
				1,86 b	2,92 a						
		A	<0,0001	Julio	Agosto						
				1,80 b	2,98 a						

	V*CH	0,2186	nogal-an 3,73	Churrinche-an 3,23	Carumbé-an 2,87	Nogal-c 2,2	Carumbé-c 2,17	Arrayán-an 1,83	Churrinche- c 1,82	Arrayán-c 1,26
	V*A	0,0411	Carumbé-a 3,56 a	Nogal -a 3,27 ab	Churrinche-a 2,89 ab	Nogal-j 2,67 abc	Arrayán-a 2,20 bc	Churrinche-j 2,16 bc	Carumbé-j 1,48 cd	Arrayán-j 0,89 d
	CH*A	0,026	Agosto-an 3,73 a	agosto-c 2,23 b	julio-an 2,10 b	julio-c 1,50 b				
C.S. p.a. (%)/ C.S. raíz(%)	61 V	0,2644	Arrayán 4,59	Carumbé 4,07	Nogal 3,24	Churrinche 3,11				
	CH	<0,0001	control 5,82 a	Anegado 1,69 b						
	A	0,0122	julio 2,96 b	Agosto 4,54 a						
	V*CH	0,0833	Arrayán-c 7,88	Carumbé-c 6,31	Nogal-c 4,73	Churrinche-c 4,35	Churrinche-an 1,87	Carumbé-an 1,83	Nogal-an 1,75	Arrayán-an 1,3
	V*A	0,2568	Arrayán-a 6,23	Carumbé-a 5,18	Churrinche-a 3,46	Nogal-a 3,3	Nogal-j 3,18	Carumbé-j 2,96	Arrayán-j 2,95	Churrinche-j 2,76
	CH*A	0,0163	agosto-c 7,36 a	julio-c 4,27 b	agosto-an 1,72 c	julio-an 1,65 c				

V: variedad; CH: condición hídrica; A: ambiente; an: anegado; c: control; a: agosto; j: julio.