

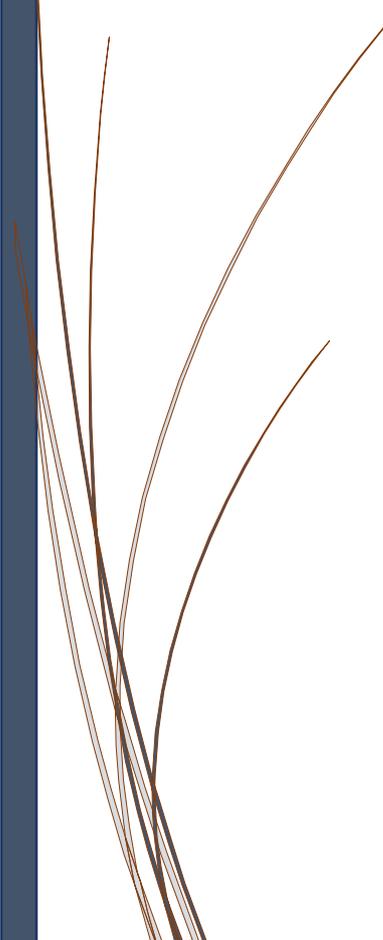


**“Respuesta fotosintética de *Glycine max* (L.) Merr.
en diferentes ambientes lumínicos: un acercamiento
desde la partición de la energía en el fotosistema II.”**

Tesina de Grado
Licenciatura en Ciencias Biológicas

Camilo Mauro Martínez

Laboratorio de Fotobiología
Facultad de Agronomía, UdelaR
Uruguay
2021



Orientador:

Dr. Gastón Quero



Tribunal:

Dr. Hernán Ramiro Lascano

Dra. María Martha Sainz

Dr. Gastón Quero

CONTENIDOS

ABREVIATURAS	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Fotosíntesis	8
1.1.1 Fase Fotofísica	10
1.1.2 Fase Fotoquímica	10
1.1.2.1 Complejo partidor de agua (OEC: Oxygen-Evolving Complex)	12
1.1.3 Fase Bioquímica	12
1.1.3.1 Ingreso de CO ₂ a la planta	13
1.1.4 Fotoinhibición del PSII	15
1.1.5 Mecanismos de regulación de la energía en el PSII	16
1.2 Factores Ambientales	17
1.2.1 Temperatura, Déficit de Presión de Vapor (DPV) y Contenido Hídrico del Suelo ...	17
1.2.2 Ambiente Lumínico	18
1.2.2.1 Calidad Espectral	19
1.3 Fluorescencia de la Clorofila	22
1.3.1 Técnica PAM	23
1.4 Partición de la Energía	25
1.4.1 Subparámetros de Partición de la Energía	26
1.5 Soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	26
1.6 Hipótesis y Objetivos	27
1.6.1 Objetivo General	27
1.6.1 Objetivos Específicos	27
2. MATERIALES Y MÉTODOS	28
2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento	28
2.1.1 Temperatura, Humedad Relativa y Déficit de Presión de Vapor	28
2.1.2 Ambientes Lumínicos: intensidad y calidad espectral	29
2.2 Fluorescencia de la clorofila	30
2.3 Partición de la energía: análisis de <i>quenching</i> y de relajación	30
2.4 Diseño Experimental y Análisis Estadístico	31
3. RESULTADOS	33
3.1 Ambientes Lumínicos	33
3.2 Partición de la energía en el PSII	35



3.2.1 Análisis de Varianza (ANOVA)	35
3.2.2 Efecto de la Luz Actínica en la Partición de la Energía.....	35
3.2.3 Efecto de la Interacción Genotipo y Ambiente Lumínico en la Partición de la Energía	35
3.3.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)	38
3.3.2 Grafos de Correlación de Parámetros	40
4. DISCUSIÓN	42
5. CONCLUSIONES	45
6. PERSPECTIVAS	46
7. AGRADECIMIENTOS	47
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
ANEXOS.....	53
Composición del medio B y D	53
Tabla Suplementaria 1.....	54
Tabla Suplementaria 2.....	54
Tabla Suplementaria 3.....	54
Tabla Suplementaria 4.....	55
Tabla Suplementaria 5.....	56
Figura Suplementaria 1	57
Figura Suplementaria 2.....	58

ABREVIATURAS

- Φ_{NO} : rendimiento cuántico de procesos de disipación constitutivos.
- $\Phi_{NO_{basal}}$: rendimiento cuántico de la disipación térmica producto de PSII inactivos.
- $\Phi_{NO_{psII}}$: rendimiento cuántico de la disipación térmica basal de PSII activos.
- Φ_{NPQ} : rendimiento cuántico del quenching no fotoquímico no basal
- $\Phi_{NPQ_{fast}}$: rendimiento cuántico del *quenching* no fotoquímico de rápida relajación
- $\Phi_{NPQ_{slow}}$: rendimiento cuántico del *quenching* no fotoquímico de lenta relajación
- Φ_{PSII} : rendimiento cuántico del PSII
- Φ_{qp} : rendimiento cuántico debido a la porción de CR abiertos
- Φ_{qs} : rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos -oxidados-
- **A**: Ambiente **A**zules
- **AL**: Ambiente **L**umínico
- **ADP**: Adenosine **D**iphosphate
- **ATP**: Adenosine **T**riphosphate
- **B1**: Ambiente **B**lanco 1
- **B2**: Ambiente **B**lanco 2
- **clor_a**: **C**lorofila **a**
- **C_a**: Concentración de **CO₂** atmosférico
- **CC**: Capacidad de **C**ampo
- **C_i**: Concentración de **CO₂** intercelular
- **CO₂**: Dióxido de **C**arbono
- **CR**: Centro de **R**eacción
- **cb_{6f}**: Complejo citocromo-**b_{6f}**
- **DM**: Don **M**ario 6.8i “Barraca Erro S.A.”
- **DPV**: Déficit de **P**resión de **V**apor
- **ERO**: **E**species **R**eactivas del **O**xígeno
- **FIClor**: **F**luorescencia de la **C**lorofila
- **FRET**: Förster **R**esonance **E**nergy **T**ransfer
- **G**: **G**enotipo
- **GE**: **G**énesis 5601 “Grupo Soja e INIA”
- **LA**: Luz **A**ctínica
- **LA200**: Luz **A**ctínica de **200** $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$
- **LA400**: Luz **A**ctínica de **400** $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$
- **LA850**: Luz **A**ctínica de **850** $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$
- **NADP⁺**: Nicotinamide **A**denine **D**inucleotide **P**hosphate, forma oxidada
- **NADPH**: Nicotinamide **A**denine **D**inucleotide **P**hosphate, forma reducida enlazada con átomo de **H**idrógeno
- **O₂**: **O**xígeno
- **¹O₂**: **O**xígeno singlete
- **OEC**: **O**xygen-**E**volving **C**omplex
- **PAM**: **P**ulse **A**mplitude **M**odulation (Modulación por Amplitud de Pulsos)
- **PAR**: **P**otosynthetically **A**ctive **R**adiation
- **PC**: **P**lastocianina
- **PCA**: **P**rincipal **C**omponent **A**nalysis
- **PGA**: **P**hosphoglycerate
- **PPFD**: **P**otosynthetic **P**hoton **F**lux **D**ensity
- **ppm**: **P**artes por millón
- **PQ**: **P**lastoquinona
- **PSI**: **P**hoto **S**ystem **I** (Fotosistema I)
- **PSII**: **P**hoto **S**ystem **II** (Fotosistema II)



- **Q_A**: Quinona A
- **R**: Ambiente Rojos
- **RuBisCO**: Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase-Oxygenase
- **RuBP**: Ribulose Bisphosphate
- **V3**: Verticilo 3
- **V4**: Verticilo 4

RESUMEN

La fotosíntesis es un proceso muy importante ya que es la fuente de alimento, fibras y varias sustancias utilizables por el humano. Si bien existen diversos trabajos que estudian el efecto de la intensidad lumínica sobre la fotosíntesis en hojas de soja, pocos analizan el efecto de la calidad espectral sobre las mismas. En este trabajo se estudió la respuesta fotosintética de hojas de *Glycine max* desarrolladas en ambientes lumínicos con igual potencia y diferente composición espectral: luz blanca, luz blanca enriquecida en rojos, 100% rojos y 100% azules. Se evaluaron dos genotipos (Génesis 5601 y Don Mario 6.8i), utilizándose cuatro réplicas por genotipo y ambiente. Las macetas se mantuvieron a capacidad de campo. Se cuantificó la partición de la energía en el PSII mediante el uso de un fluorómetro en tres intensidades de luz actínica (200, 400 y 850 $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Se analizaron los parámetros de partición Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO} , y los subparámetros correspondientes Φ_{qp} , Φ_{qs} , Φ_{NPQfast} , Φ_{NPQslow} , Φ_{NOpsII} y Φ_{NObasal} . Para el análisis estadístico se utilizó un modelo lineal general y se realizaron análisis de varianza para establecer si hubo efecto significativo de las fuentes de variación sobre los parámetros. A posteriori se realizó un análisis de contrastes para establecer diferencias entre las medias de los tratamientos. Luego se realizó un análisis de componentes principales para cada ambiente lumínico y se construyeron grafos para visualizar la correlación entre los subparámetros por ambiente y genotipo. Se pudo establecer que, el ambiente lumínico de desarrollo determinó la partición de la energía en el PSII. La estrategia de partición fue diferente entre ambientes y entre genotipos. En los ambientes de luz blanca enriquecida en rojos y 100% rojos se encontraron diferencias significativas entre los genotipos, donde Don Mario 6.8i presentó mayor transferencia de electrones a la fase fotoquímica.

Palabras clave: rendimiento cuántico, fluorescencia de la clorofila, calidad espectral, luz roja, soja

ABSTRACT

Photosynthesis is an important process because is the source of food, fibers, and many usable substances by humans. Even though the light intensity effect on soybean leaves photosynthesis has been widely studied, little is known about the effect of light spectral composition on them. This work aimed to evaluate the photosynthetic response of *Glycine max* leaves developed in different light environments. Four light environments were established: white light, white red-enriched light, 100% red light, and 10% blue light. All of them had the same light power. Two genotypes were evaluated (“Genesis 5601” and “Don Mario 6.8i”), and four replicates by genotype and environment were used. The pots were maintained at field capacity. Light energy partitioning in PSII was quantified through a fluorometer with three actinic light intensities (200, 400 y 850 $\mu\text{moles photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Partitioning parameters (Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO}) and sub-parameters (Φ_{qp} , Φ_{qs} , Φ_{NPQfast} , Φ_{NPQslow} , Φ_{NOpsII} y Φ_{NObasal}) were analyzed. A general linear model was used for statistical analysis and the significant effect of variation sources was tested through analysis of variance. Then, the means of significant treatments were analyzed through contrast analysis. A principal component analysis was done for each light environment and graphs were constructed to visualize sub-parameters correlations by environment and genotype. It was established that energy partitioning in PSII was determined by the development light environment of leaves. Energy partitioning strategy was different in all environments and between genotypes. Significant differences between genotypes were found in white red-enriched light and 100% red light, where “Don Mario 6.8i” presented more electron transfer to the photochemical phase.

Keywords: quantum yield, chlorophyll fluorescence, spectral quality, red light, soybean



1. INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis oxigénica es un proceso muy importante, no solo porque es la fuente de alimento, fibras y varias sustancias utilizables por el humano, sino porque también casi toda la vida en la Tierra depende de ella, directa o indirectamente. Productores primarios como plantas, algas y cianobacterias son fotosintetizadores oxigénicos que utilizan la energía lumínica para generar moléculas orgánicas (p. ej. glucosa, azúcares, almidón) a partir de dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), liberando oxígeno (O_2) hacia la atmósfera (Lazár et al., 2019). Esta energía almacenada en forma de moléculas orgánicas, es posteriormente adquirida por animales -directamente en caso de herbívoros, indirectamente en caso de carnívoros, o de ambas maneras en caso de omnívoros como los humanos-. No importa cuánto de la energía es adquirida y distribuida en los ecosistemas, la principal fuente energética de los mismos siempre será la radiación solar capturada por la fotosíntesis. Si este continuo ingreso energético desde el sol no existiese, los organismos que actualmente viven en la Tierra y por ende los ecosistemas, derivarían en una pérdida de equilibrio y potencialmente la muerte (Nobel, 2009).

Con un inminente y exponencial crecimiento poblacional humano, y a su vez, limitadas tierras destinadas a una agricultura que sustente a la población, se torna esencial potenciar y mejorar las actividades fotosintéticas de los cultivos (Lazár et al., 2019). Es así que emergen dos problemáticas claves a resolver en las estrategias de mejoramiento. En primer lugar, es necesario comprender qué sucede con los procesos fotosintéticos a nivel de individuo, puesto que en la mejora de cultivos subyace el mejoramiento de un individuo. En este sentido, una primera aproximación para comprender los mecanismos fotosintéticos, es exponer individuos ante diferentes condiciones y estímulos ambientales, con la posterior medición de parámetros adecuados. En segundo lugar, realizar adecuadas interpretaciones en discriminar qué ejemplares son los que responden más eficientemente ante los estímulos ambientales.

1.1 Fotosíntesis

La fotosíntesis es un proceso por el cual la energía solar es convertida en biomasa con una eficiencia general de aproximadamente 1%. Es un proceso complejo, que en plantas requiere de dos fotosistemas dispuestos en serie – fotosistema II (PSII) y fotosistema I (PSI)- para llevar a cabo los procesos de generación de oxígeno molecular mediante la oxidación del agua, y el de reducción de CO_2 para generar moléculas orgánicas. Ambos procesos son altamente demandantes de energía (Björn, 2010). En términos generales, la fotosíntesis se lleva a cabo en los cloroplastos de las células del mesófilo de la hoja (Figura 1). En el interior de los cloroplastos hay un sistema de membranas conocidos como tilacoides, que forman un sistema intrincado de pliegues formando dobles membranas en forma de láminas paralelas. A su vez, dichas láminas se apilan formando lamelas en grana, o permanecen solitarias formando lamelas estromáticas (Figura 1) (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

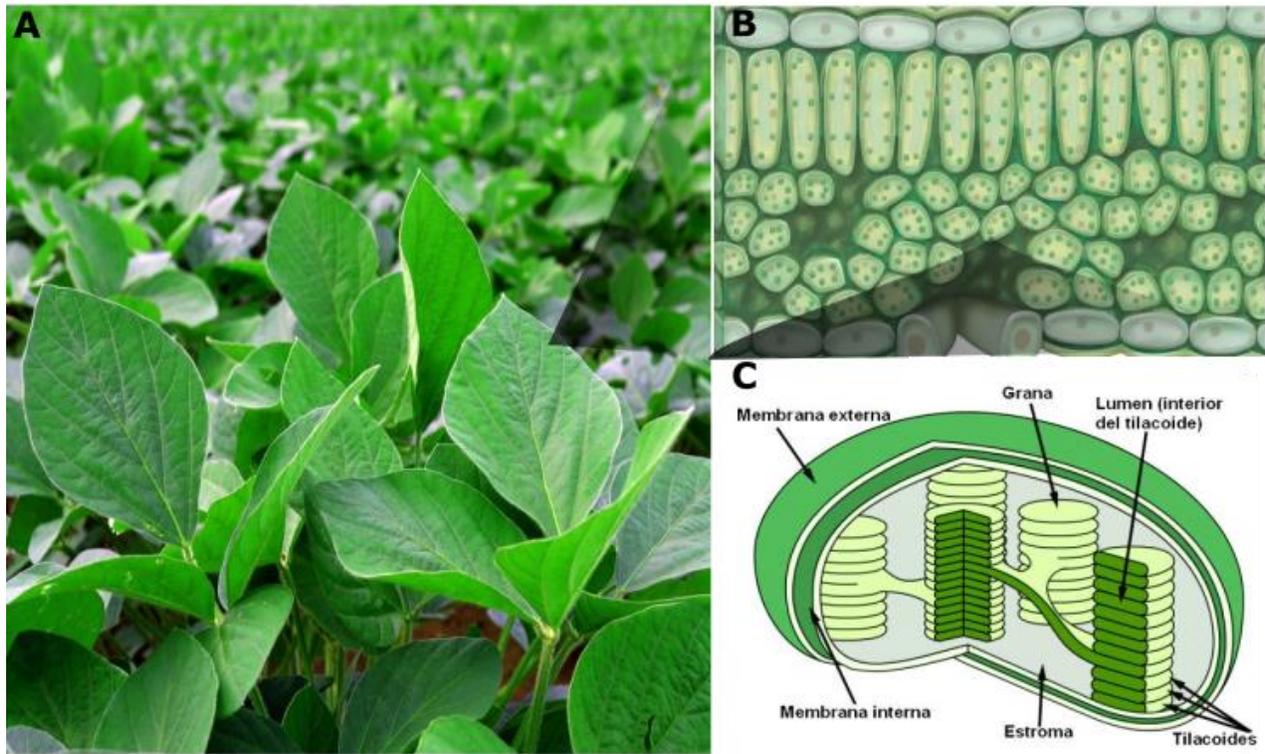


Figura 1. A. Plantas de *Glycine max*. B. Ilustración de microscopía de tejido vegetal. C. Ilustración de cloroplasto indicando sus componentes.

La primera fase de la fotosíntesis, comienza en la membrana tilacoidal enriquecida en pigmentos antena encargados de captar fotones y transmitir la energía de excitación hacia los centros de reacción (CR) de los fotosistemas mencionados, PSII y PSI (fase fotofísica) (Figura 2). Es en dichos CR donde ocurren los primeros cambios químicos en moléculas, y comienzo de la segunda fase, funcionando el CR como el primer donante de electrones del PSII hacia la cadena de transporte de electrones (fase fotoquímica) (Figura 2). Además, en la cavidad definida en el interior del tilacoide, denominada lumen, ocurre la fotólisis del agua (Figura 2). Por otro lado, la matriz acuosa que circunda los tilacoides, y que puede ser considerada análoga al citosol de una célula, es denominada estroma. Allí se localiza el aparato biomolecular que realiza la tercera fase de la fotosíntesis (fase bioquímica) (Azcón-Bieto & Talón, 2013; Blankenship, 2014).

Asimismo, Blankenship (2014) profundiza y separa la fase fotoquímica en dos, quedando el proceso fotosintético dividido en tres fases -con una de ellas subdividida en dos etapas- de la siguiente manera: (1) absorción de luz y entrega de energía por parte de los sistemas antenas (fase fotofísica); (2.1) y (2.2), transferencia primaria de electrones en los CR, y estabilización energética gracias a procesos secundarios (fase fotoquímica); y (3) síntesis y exportación de productos estables (fase bioquímica). Las dos primeras fases se corresponden con el tradicional concepto de “reacciones ocurridas en luz”, mientras que la última fase se corresponde con el de concepto de “reacciones ocurridas en oscuridad” (Blankenship, 2014).



Sin embargo, según Blankenship (2014), esta nomenclatura es errónea y confusa, puesto que todas las fases involucran reacciones que en algún momento están dirigidas o reguladas por la luz. Tal es el caso de la acción de algunas enzimas involucradas en el metabolismo del carbono, que se encuentran reguladas por componentes producidos por procesos dirigidos por luz (Blankenship, 2014). Un ejemplo claro es la regulación de la fase bioquímica mediada por el sistema ferredoxina-tiorredoxina, que mediante una cascada de reacciones redox previene la síntesis y degradación simultánea de carbohidratos (Dai et al., 2000).

1.1.1 Fase Fotofísica

Para que la energía lumínica pueda ser almacenada mediante el proceso fotosintético, primero es preciso absorber dicha energía (Blankenship, 2014). La luz es absorbida por la clorofila a ($clor_a$) y b y pigmentos carotenoides, componentes de complejos pigmento-proteicos denominados complejos antena (Johnson & Wientjes, 2019). Dichos complejos antena no realizan ninguna química, sino que funcionan como un mecanismo de embudo, transfiriendo la energía por FRET hacia los CR del PSII y PSI (Figura 2) (Nelson & Ben-Shem, 2004; Blankenship, 2014). Los CR se excitan (Figura 2), es decir que alcanzan un nivel de energía más alto, dando lugar a una separación de cargas, comenzando así el primer paso de la fase fotoquímica (Blankenship, 2014).

1.1.2 Fase Fotoquímica

La fase fotoquímica comienza con dos reacciones lumínicas casi simultáneas que ocurren en los CR del PSII y PSI (Figura 2) (Blankenship, 2014; Nelson & Junge, 2015; Lazár et al., 2019). Los CR son dímeros de clorofila a, que están en un entorno particular que le confiere la capacidad de hacer fotoquímica (Blankenship, 2014). La excitación del CR del PSII provoca la pérdida de un electrón del mismo, hacia una molécula oxidada aceptora de electrones, la feofitina (Figura 2) (Azcón-Bieto & Talón, 2013). A su vez, para que dicha reacción ocurra es necesario que un segundo aceptor -la quinona A (Q_A)- se encuentre oxidado (Nobel, 2009), de forma de evitar el retroceso del electrón desde la feofitina hacia el CR mediante un fenómeno denominado recombinación, el cual conllevaría disipación de la energía en forma de calor (Nobel, 2009; Blankenship, 2014). Esta es la denominada “primera reacción” de la fotosíntesis, y corresponde a la primera etapa de la fase fotoquímica (Blankenship, 2014). Dicha transferencia de electrones da lugar a que suceda la remoción de electrones del agua a través de su fotólisis, -produciendo además, oxígeno molecular y protones en el lumen del tilacoide- y la transferencia de electrones a través de una cadena de transportadores en la membrana tilacoidal (Figura 2) (Blankenship, 2014; Lazár et al., 2019).

Por otro lado, la excitación del CR del PSI, provoca la pérdida de un electrón del mismo, hacia una serie de aceptores de electrones, donde se destaca la ferredoxina como uno de los

aceptores más importantes (Figura 2) (Blankenship, 2014). Ambos fotosistemas se encuentran comunicados a través de la cadena de transporte de electrones de la membrana tilacoidal, la cual está conformada por una plastoquinona (PQ), una molécula liposoluble, el complejo proteico citocromo b_6f (cb_6f) y una plastocianina (PC), una pequeña proteína que se encuentra del lado luminal y que tiene cobre como cofactor, como principales aceptores de electrones (Figura 2) (Björn, 2010; Johnson & Wientjes, 2019; Lazár et al., 2019).

El transporte de electrones entre el PSII y el cb_6f se encuentra acoplado con la deposición de protones (H^+) en el lumen del tilacoide, contribuyendo a la generación de un gradiente potencial electroquímico -la fuerza protón motriz- que será utilizado por la ATPsintasa para sintetizar ATP. El flujo lineal de electrones dará lugar a la formación de poder reductor mediante la reducción de $NADP^+$ en NADPH (Blankenship, 2014; Johnson & Wientjes, 2019; Lazár et al., 2019). Tanto el NADPH como el ATP serán utilizados en la fase final de la fotosíntesis que involucra la formación de azúcares y almidón mediante la fijación del CO_2 (Azcón-Bieto & Talón, 2013). El conjunto de reacciones de transferencia de electrones y cotransporte de protones que sustentan la generación de ATP y NADPH, corresponden a la segunda etapa de la fase fotoquímica, denominada “estabilización por reacciones secundarias” (Blankenship, 2014).

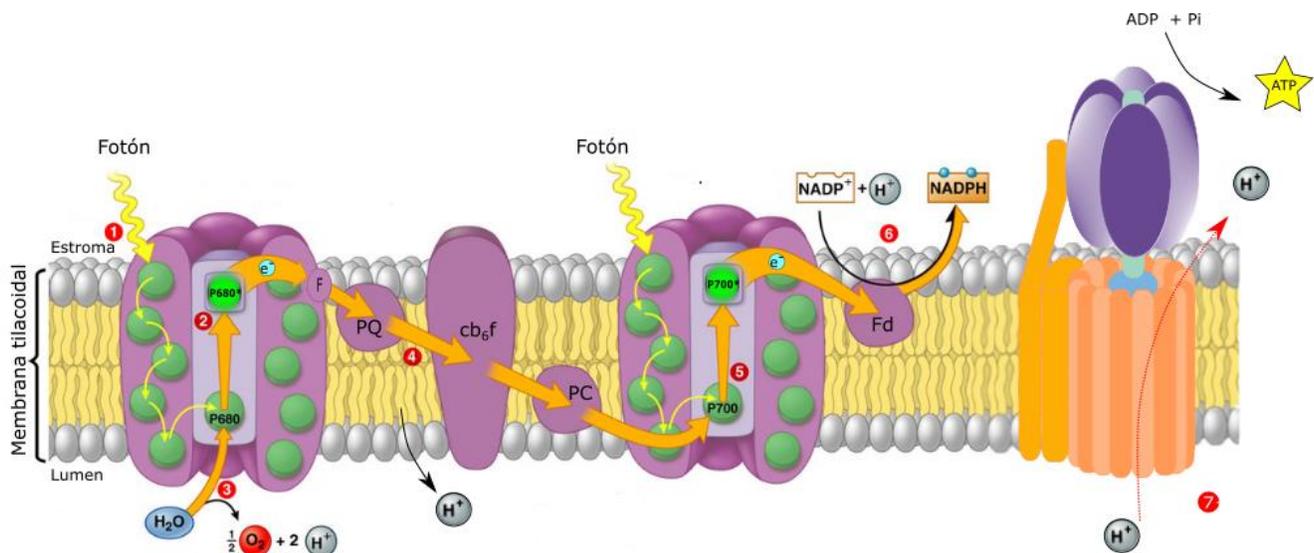
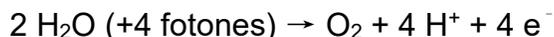


Figura 2 Esquema ilustrando la fase fotoquímica y fotoquímica del proceso fotosintético. **P680**: Fotosistema II. **P680***: Fotosistema II excitado. **F**: Feofitina. **PQ**: Plastoquinona. **cb_6f** : Complejo citocromo b_6f . **PC**: Plastocianina. **P700**: Fotosistema I. **P700***: Fotosistema I excitado. **Fd**: Ferredoxina. **$NADP^+$** : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate. **NADPH**: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate reducido. **1**. Un fotón es absorbido por los pigmentos antena y la energía de excitación es transferida al centro de reacción del P680. **2**. El centro de reacción se excita y transfiere un electrón a la feofitina. **3**. Transferencia de un electrón al P680 oxidado mediante la fotólisis del agua. Liberación de oxígeno y deposición de protones en el lumen tilacoidal. **4**. El electrón del P680* es transferido a través de la cadena de transporte hacia el P700. Se acopla la deposición de protones en el lumen tilacoidal. **5**. El P700 es excitado análogamente al paso 1 y transfiere un electrón a la ferredoxina. El electrón que reduce nuevamente al centro de reacción del P700 proviene de la cadena de transporte. **6**. Los electrones son utilizados para generar poder reductor (NADPH) mediante la reducción del $NADP^+$. **7**. Síntesis de ATP mediante el uso de la fuerza protón motriz generada por el gradiente de protones entre lumen y estroma.



1.1.2.1 Complejo partidor de agua (OEC: Oxygen-Evolving Complex)

Como fue mencionado anteriormente, la fotosíntesis oxigénica requiere del agua como dador de electrones, ya que una vez el PSII excitado entrega un electrón a la cadena de transporte, requiere de una reposición electrónica. Dicho electrón proviene de la oxidación del agua por parte del complejo partidor de agua. El OEC, quien es el responsable de la fotólisis del agua en el PSII, está formado por un *cluster* de 4 átomos de manganeso y uno de calcio (Blankenship, 2014). El CR oxidado del PSII -luego de la transferencia del electrón hacia la cadena de transporte- es reducido mediante la transferencia electrónica desde un residuo de tirosina de la proteína D1 (Bricker & Ghanotakis en Ort. & Yocum, 1996). La subsecuente reducción de la tirosina conlleva la acumulación de un equivalente oxidante, donde la acumulación de cuatro de ellos se traduce en la liberación de oxígeno molecular desde el OEC. Cabe aclarar que la acumulación de los equivalentes oxidantes sucede en el OEC mediante cambios de su estado conformacional. Es así que se necesitan 2 moléculas de agua -que donan 4 electrones en total- para la liberación de una molécula de O₂. Por ende, son necesarios cuatro fotones absorbidos y transferidos para la liberación de una molécula de O₂. La ecuación se completa con la deposición de cuatro protones en el lumen del tilacoide, contribuyendo al gradiente de protones en la membrana tilacoidal que posteriormente será utilizado como fuerza protón motriz para la generación de ATP (Blankenship, 2014). De esta forma, se obtiene la siguiente ecuación denominada ecuación de Hill (Azcón-Bieto & Talón, 2013):



1.1.3 Fase Bioquímica

El ATP y NADPH previamente generados, son compuestos de alta energía pero de estabilidad intermedia, lo que requiere que la energía contenida en dichas moléculas, sea almacenada de forma estable. Ello se logra mediante la síntesis de azúcares y otros carbohidratos más complejos, que servirán para la generación de biomasa, o almacenaje en órganos de reserva como semillas o frutos (Blankenship, 2014). Es así que la fase final de la fotosíntesis involucra la producción de moléculas estables altamente energéticas mediante la asimilación y reducción del CO₂, mediante la utilización del NADPH y la energía contenida en los enlaces fosfato del ATP. Las reacciones de asimilación y reducción del CO₂ son procesos catalizados por enzimas y llevados a cabo en el estroma del cloroplasto (Benson, 2002; Blankenship, 2014; Lazár et al., 2019).

La ruta metabólica mediante la cual se asimila el CO₂ en las plantas es denominada ciclo de Calvin-Benson-Bassham (Benson, 2002; Blankenship, 2014). En esta ruta se distinguen tres fases: la de fijación del CO₂, la de reducción del carbono y la de regeneración del azúcar intermediario ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP). La fijación de CO₂ tiene lugar por carboxilación de la RuBP, es decir mediante la incorporación de CO₂ a la RuBP. Este paso está

catalizado por una enzima denominada ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), generando fosfoglicerato (PGA) como producto intermedio estable. El PGA es un azúcar de 3 carbonos, y el primer producto estable en el que queda fijado el carbono en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham, lo que da lugar a la denominación de metabolismo C₃ del carbono (Taiz & Zeiger, 2002; Azcón-Bieto & Talón, 2013; Blankenship, 2014). La fase de reducción del carbono utiliza poder reductor -NADPH-, y gran parte del ATP generados mediante la cadena de transporte electrónico, con el objetivo de reducir el PGA a triosa fosfato. La mayor parte de la triosa fosfato es utilizada para la regeneración de la RuBP en la tercera fase del ciclo, que también requiere aporte energético proveniente del ATP, y solo 1/6 de las triosas fosfato se van a biosíntesis neta (Azcón-Bieto & Talón, 2013; Blankenship, 2014).

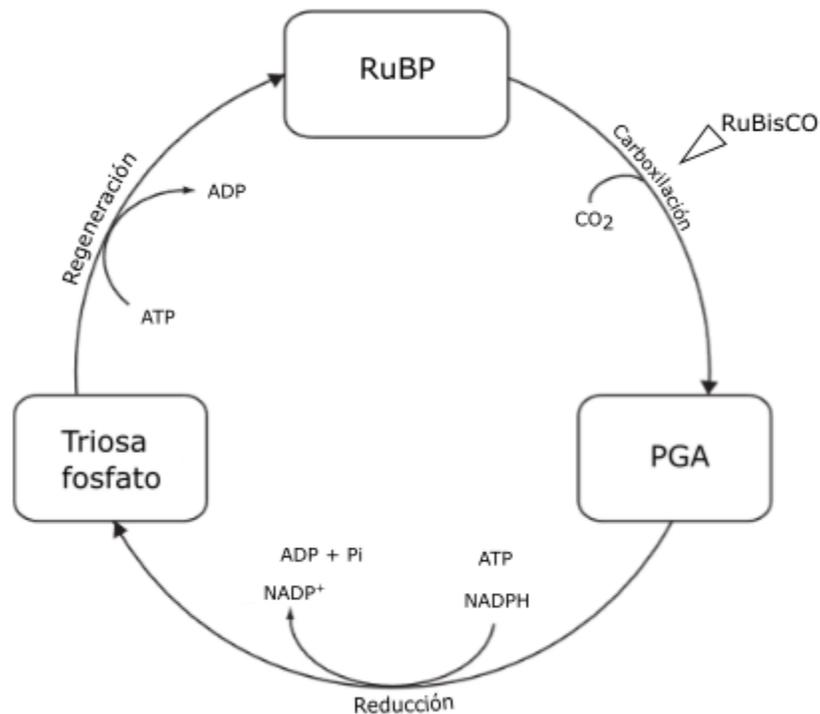


Figura 3 Las tres fases del ciclo de Calvin-Benson: carboxilación, reducción y regeneración. La enzima RuBisCO cataliza el paso de asimilación del CO₂. La mayoría del ATP y todo el NADPH son utilizados en la fase de reducción. Parte del ATP es utilizado en la fase de regeneración. **RuBP**: Ribulosa 1,5-bisfosfato. **RuBisCO**: Ribulosa-1.5-bisfosfato Carboxilasa/Oxigenasa. **PGA**: Fosfoglicerato. **Triosa fosfato**: término que refiere a los azúcares gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato. **Pi**: Fosfato inorgánico. **ADP, ATP, NADP⁺ y NADPH**: ver Abreviaturas. Adaptado de Blankenship (2014).

1.1.3.1 Ingreso de CO₂ a la planta

El CO₂ es un gas que se encuentra de forma natural en la atmósfera en niveles muy bajos -400 ppm, aproximadamente-. A pesar de ello, es el sustrato principal de la fotosíntesis, ya que como fue dicho anteriormente, es la fuente de carbono para la síntesis de los distintos compuestos orgánicos. La concentración de CO₂ en el aire influye en el crecimiento de las plantas, pues éstas tienen que incorporar CO₂ en cantidades suficientes para poder sintetizar los glúcidos necesarios para su crecimiento y desarrollo (Taiz & Zeiger, 2002; Azcón-Bieto &



Talón, 2013).

En las plantas C_3 la absorción del CO_2 depende de la difusión del mismo hacia el interior de la hoja. El CO_2 difunde desde el aire hasta el cloroplasto, y para ello debe pasar por distintas resistencias ofrecidas por diversos componentes de la hoja: la ofrecida por la capa límite, la estomática, la de los espacios aéreos intercelulares, y la resistencia del mesófilo. La concentración de CO_2 disminuye a medida que atraviesa dichas resistencias. Es por ello que una baja relación entre la concentración interna de CO_2 respecto de la concentración atmosférica (C_i/C_a) provocarían una mayor apertura estomática con el objetivo de satisfacer la demanda de CO_2 en la actividad fotosintética (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

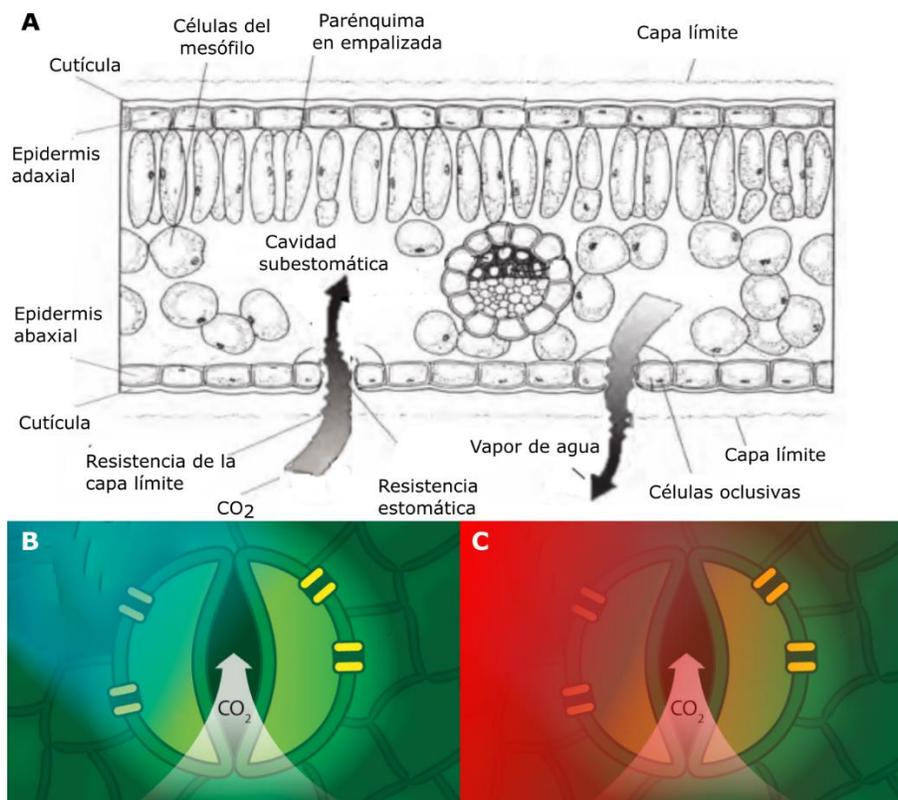


Figura 4 Ingreso del CO_2 a la planta. **A.** Resistencias foliares al ingreso de CO_2 a la planta. Se marcan la resistencia de la capa límite y la resistencia estomática. **B y C.** Apertura estomática mediada por luz azul y luz roja respectivamente. Apertura estomática mediante el mecanismo de luz roja requiere de mayor irradiancia que el de luz azul. Respuesta a la luz roja podría ser una respuesta indirecta mediada por la absorción de CO_2 en el mesófilo de la hoja (Baroli et al., 2008)

La principal resistencia a la difusión de CO_2 es la estomática, que cobra especial importancia ya que puede ser regulada por la luz y agua. En plantas C_3 , la apertura estomática en función de la luz es inducida por diferentes mecanismos que dependen de la longitud de onda de la luz incidente. La luz azul es percibida directamente por fototropinas que activan una cascada de señales provocando la apertura estomática. Se cree que este mecanismo requiere de la sola presencia de la luz azul, sin ser dependiente de la irradiancia de la misma. Por otro

lado, la apertura estomática mediante el mecanismo de luz roja requiere de mayor irradiancia que el de luz azul. Además, se ha sugerido que la respuesta de las células oclusivas a la luz roja es en parte una respuesta indirecta mediada por la absorción de CO₂ en el mesófilo de la hoja y asociada a la síntesis de sacarosas y su acumulación en vacuola (Baroli et al., 2008).

1.1.4 Fotoinhibición del PSII

En determinados ambientes lumínicos, generalmente aquellos con intensidades lumínicas altas o cuando predominan luces con longitudes de onda correspondientes al azul, la tasa fotosintética puede verse afectada mediante un fenómeno denominado fotoinhibición (Zavafer et al., 2015a; Zavafer et al., 2015b; Zavafer, 2021). La fotoinhibición es definida como el fenómeno en el cual se pierde actividad fotosintética neta debido a un conjunto de procesos inducidos por luz.

A su vez, se reconocen dos formas de fotoinhibición. Una forma es la fotoinactivación, definida como la pérdida de actividad fotosintética debido a procesos inducidos por luz. Mientras que la segunda forma se denomina fotodaño y sucede cuando el aparato fotosintético experimenta daño producto de modificaciones químicas. (Zavafer et al., 2015a). Se considera fotoinhibición neta positiva cuando la tasa de fotoinactivación sobrepasa la tasa de reparación del PSII (Zavafer et al., 2015a; Zavafer et al., 2015b). Cabe agregar que la degradación enzimática de la D1 no es referida como fotodaño puesto que es un paso enzimático en el ciclo de reparación del PSII (Figura 5) (Zavafer et al., 2015a).

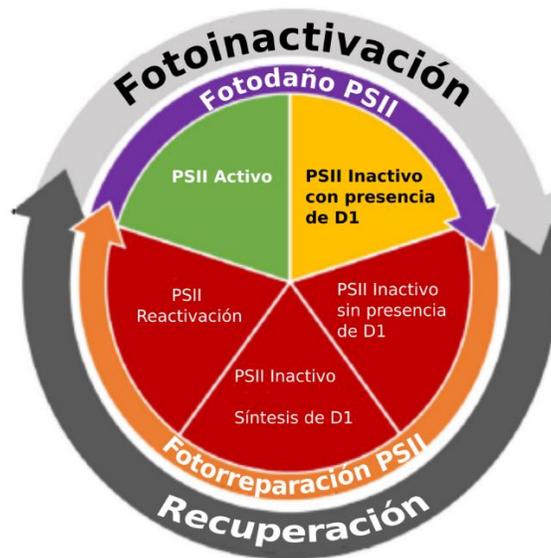


Figura 5 Ciclo de fotoinhibición del PSII. Las flechas representan la secuencia del proceso. Fotodaño y fotorreparación están representados como subprocesos de la fotoinactivación y recuperación respectivamente. El estado del PSII es presentado dentro de las porciones triangulares del círculo interior. **PSII**: Fotosistema II. **D1**: proteína perteneciente al PSII. Adaptado de Zavafer et al. (2015a)



La fotoinhibición ocurre en dos pasos. El primer paso es el fotodaño del OEC que sería causado debido a la absorción lumínica por el *cluster* de manganeso (Zavafer et al., 2015b), principalmente en la región UV y luz azul (Ohnishi, 2005), aunque cualquier región del espectro visible podría causar daños (Zavafer et al., 2015b). El segundo paso es el fotodaño en el CR del PSII, evento que ocurre producto de la limitación del aporte de electrones desde la molécula de agua debido al fotodaño previamente ocurrido en el OEC (Zavafer et al., 2015b).

Sumado a lo anterior, la fotoinhibición es potenciada en condiciones donde la energía lumínica absorbida por pigmentos fotosintéticos excede su utilización en el transporte de electrones. Por ejemplo, la interrupción del ciclo de Calvin-Benson-Bassham disminuye la capacidad de utilización de la energía y acelera la fotoinhibición. Sin embargo, estudios recientes demostraron que el exceso de energía provoca la persistencia del fotodaño, no por causar fotodaño *per se*, sino debido a provocar la inhibición de la reparación del fotodaño en el PSII (Zavafer et al., 2015b). Asimismo, las especies reactivas del oxígeno (EROs) producidas bajo condiciones de exceso de luz causan fotoinhibición de igual manera, es decir mediante la inhibición de la reparación del PSII (Takahashi & Badger, 2011; Zavafer et al., 2015b). Para sobrellevar la fotoinhibición, los organismos fotosintéticos presentan un ciclo de reparación del PSII en el que las proteínas dañadas -principalmente la D1- son reemplazadas con nuevas proteínas, conllevando un desensamblaje parcial del PSII (Takahashi & Badger, 2011; Zavafer et al., 2015b).

1.1.5 Mecanismos de regulación de la energía en el PSII

En ambientes donde la absorción de la energía lumínica excede la capacidad de utilizar la luz, las plantas deben recurrir a procesos que regulen y protejan la fotosíntesis. Una posible problemática del excedente energético, es la transferencia de la energía de la clorofila excitada hacia una molécula de oxígeno generando oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), una ERO extremadamente dañina (Müller et al., 2001).

Como fue mencionado anteriormente, tanto el OEC como la cadena de transporte de electrones contribuyen a la generación de un gradiente de pH en la membrana tilacoidal, mediante la acidificación del lumen del tilacoide. Dicha acidificación es una señal inmediata del exceso de luz, disparando mecanismos de regulación de la luz absorbida. Se induce la protonación de proteínas del PSII -como la PsbS perteneciente al complejo antena- y además activa la síntesis de zeaxantina a través del ciclo de las xantófilas. Ambas vías provocan cambios conformacionales en el PSII que facilitan la disipación de la energía (Müller et al., 2001; Blankenship, 2014).

La forma que dichos mecanismos tienen de proteger la fotosíntesis es mediante protección de la fotoinactivación (Horton & Ruban, 2005; Zavafer et al., 2015a). En el caso de

la PsbS se ha reportado que tiene un rol principal en ser una señal disparadora de procesos disipativos mediante la promoción de rearrreglos conformacionales en el complejo antena del PSII (Nicol & Croce, 2021). Mientras que en el ciclo de las xantofilas existiría una disipación térmica propiamente dicha. La zeaxantina es un pigmento carotenoide que permite la inactivación del $^1\text{O}_2$ mediante inactivación física, es decir mediante el paso de energía de una molécula a otra. El $^1\text{O}_2$ transfiere su energía a la zeaxantina para generar el estado triplete de ésta, y devolver al oxígeno a su estado fundamental. Posteriormente, la zeaxantina puede volver a su estado fundamental disipando la energía mediante interacciones vibracionales con el solvente (Estévez, 2016). Aún así, el mecanismo específico por el cual la energía de excitación es disipada como energía térmica a través de la zeaxantina es incierto. También se postula que podría disipar energía térmica indirectamente a través de promover la agregación de complejos antenas (Kaiser, 2019).

1.2 Factores Ambientales

El proceso de la fotosíntesis debe funcionar de forma integrada y eficiente en un medio en el que existe una enorme variabilidad natural de factores que lo afectan, tales como la disponibilidad hídrica del suelo, la temperatura, la humedad relativa del aire, la luz, entre otros. La tasa de fotosíntesis de una hoja depende de más de 50 reacciones individuales, cada una de las cuales presenta su propia respuesta a cada variable ambiental (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

1.2.1 Temperatura, Déficit de Presión de Vapor (DPV) y Contenido Hídrico del Suelo

La fotosíntesis puede operar en un amplio rango de temperaturas, siendo que el rango óptimo para las plantas C_3 – como la soja- es de 15 a 30°C. Variaciones en la temperatura ejercen influencia en la actividad de diversas enzimas y proteínas involucradas en el proceso fotosintético (Taiz & Zeiger, 2002; Azcón-Bieto & Talón, 2013), particularmente en el rendimiento cuántico del PSII (Baker et al., 1988; Dongsansuk et al., 2013). Por ejemplo, elevadas temperaturas pueden provocar la pérdida de funcionalidad de varias enzimas, pero particularmente sensible es la RuBisCO activasa. Asimismo, las membranas tilacoidales pueden aumentar excesivamente su permeabilidad con temperaturas elevadas, lo que dificultaría la formación del gradiente de protones, necesario tanto para la generación de ATP como para la activación de mecanismos de regulación de la energía (Azcón-Bieto & Talón, 2013). Por lo tanto, es preciso conocer la temperatura en las que las plantas fueron desarrolladas, de forma de asegurarse que dicho factor no ejerza influencia sobre el rendimiento cuántico del PSII.

Por otra parte, el aire contiene agua en forma de vapor de agua proveniente de la evaporación de superficies húmedas -como el suelo- y de la transpiración de plantas. La humedad relativa es la medida de la cantidad de vapor de agua en el aire, donde un 100%



corresponde a aire saturado y menores porcentajes corresponden a condiciones menos húmedas (Abtew & Melesse, 2013). Por lo tanto, conocer el porcentaje de humedad relativa es importante cuando también se conoce el valor de la temperatura, pues a partir de ambos se puede obtener el valor de déficit de presión de vapor (DPV) (Anderson, 1936; Abtew & Melesse, 2013).

La capacidad que tiene el aire de retener vapor de agua decrece con el decaimiento de la temperatura del aire. La presión de vapor es también una medida del contenido de vapor del aire, donde la presión de vapor a saturación es la medida de la capacidad máxima del aire de retener vapor de agua para una temperatura dada (Abtew & Melesse, 2013). Cuando dicha presión se encuentra por debajo de saturación, entonces existe DPV en el aire (Anderson, 1936; Abtew & Melesse, 2013). El DPV tiene implicancia en el movimiento del agua desde el suelo hacia la planta, y de ella hacia la atmósfera, donde una presión de vapor de agua en la atmósfera menor que la presión en la planta provocará -en luz y bajo condiciones hídricas óptimas- la transpiración de la planta (Gilbert et al., 2011). El DPV define las condiciones necesarias para que el movimiento de agua en el sistema suelo-planta-atmósfera siga ocurriendo (Taiz & Zeiger, 2002; Azcón-Bieto & Talón, 2013). Además, la apertura estomática provoca el ingreso de CO₂ a la planta. Mayores aperturas causarían mayores ingresos de CO₂ y por ende podría generarse mayor actividad fotosintética (Azcón-Bieto & Talón, 2013). Entonces, conocer los valores de DPV a lo largo del experimento es importante para asegurarse de que dicho factor no esté ejerciendo efecto tanto sobre la actividad fotosintética como en los parámetros de rendimiento cuántico del PSII (Peterson, 1990).

Por otro lado, casi la totalidad del agua que ingresa a la planta es mediante absorción por las raíces (Azcón-Bieto & Talón, 2013). El suelo tiene una capacidad de retención de agua dada por las características del mismo, por ejemplo, por la presencia de fracciones granulométricas de distinto tamaño, como arcillas o arena. Asimismo, las plantas pueden absorber agua en el intervalo de humedad del suelo comprendido entre capacidad de campo (CC) y el punto de marchitez permanente (PMP) (Taiz & Zeiger, 2002; Azcón-Bieto & Talón, 2013). La CC es definida como el contenido de agua que se retiene en un suelo después de ser saturado con agua (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

1.2.2 Ambiente Lumínico

La luz, factor ambiental crítico para el crecimiento y desarrollo vegetal (Monteith, 1977; Devlin et al., 2007), se define como la radiación electromagnética de longitudes de onda a las que el ojo humano es sensible (400-700 nm) (Agrawal et al., 2015). A su vez, dicho intervalo es correspondiente con el de radiación fotosintéticamente activa (PAR) (Figura 6) (Azcón-Bieto & Talón, 2013). La luz presenta un comportamiento dual, teniendo características tanto de una onda como de una partícula (Björn, 2010). La onda es caracterizada por la longitud entre sus crestas. Mientras que la partícula, también llamada fotón, contiene una cantidad discreta de energía denominada cuanto (*quantum* en inglés), que depende y es inversamente proporcional a la longitud de la onda lumínica. Es decir, a mayor longitud de onda, menor energía contenida

en un fotón (Blankenship, 2014).

La luz es tanto una fuente de energía como una fuente de información para las plantas. Es una fuente de energía para la fotosíntesis, y una fuente de información para fotoperiodismo, fototropismo y fotomorfogénesis. La luz es particularmente importante para la fotosíntesis ya que es la principal fuente de energía para llevar adelante las funciones fisiológicas y consecuentemente ejerce importante influencia sobre el desarrollo de la planta (Thomas, 2006; Agrawal et al., 2015). Una descripción de la luz incidente en plantas requiere la caracterización de su intensidad, duración, calidad (composición espectral) y dirección (Agrawal et al., 2015).

Diferentes niveles de intensidad lumínica o densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) y la calidad espectral lumínica, afectan directamente los procesos de conversión de energía en las células vegetales (Campbell & Norman, 1998; Nobel, 2009; Quero et al., 2019). Ambos parámetros, intensidad y calidad espectral, son referidos en conjunto como ambiente lumínico (Broedersen & Vogelmann, 2010; Smith et al., 2017; Quero et al., 2020).

Como fue reportado en Quero et al. (2019) la intensidad lumínica tiene implicancias en los procesos fotosintéticos, particularmente los vinculados al daño del PSII. Además, si la energía absorbida excede la capacidad de disipación de los fotosistemas, entonces muy probablemente ocurra fotoinhibición tanto en el PSII como en el PSI (Zivcak et al., 2014; Derks et al., 2015; Quero et al., 2020). Asimismo, hojas de plantas crecidas en ambientes de baja intensidad, han demostrado menor número de CRs, menor tasa de transferencia de electrones, entre otros efectos (Zivcak et al., 2014). Esto convierte a la intensidad lumínica en una fuente de variación más a tener en cuenta a la hora de analizar respuestas fotosintéticas. Por ello, en este trabajo se decide mantener constante dicho parámetro, y analizar la respuesta fotosintética del PSII en función de la composición espectral del ambiente lumínico.

1.2.2.1 Calidad Espectral

La calidad espectral de la luz refiere al número relativo de fotones con diferente longitud de onda presentes en un ambiente dado. En otros términos, es la composición relativa de fotones azules, verdes, rojos, y otras porciones del espectro lumínico emitidos por una determinada fuente de luz (Kozai, 2016).

Las regiones del espectro lumínico que son de importancia para el crecimiento y desarrollo de las plantas pueden ser divididas en tres: región UV (< 400nm), región PAR (400-700 nm) y región del rojo-lejano (700-800nm) (Björn, 2010). Además, dentro de la región PAR están comprendidos los siete colores del espectro, cada cual con su intervalo de longitud de onda correspondiente: 400-425 (violeta), 425-490 (azul), 490-560 (verde), 560-585 (amarillo), 585-640 (naranja) y 640-700 (rojo) (Figura 6) (Campbell & Norman, 1998; Nobel, 2009). Así, un ambiente de luz blanca estará compuesto por la conjunción de todas las radiaciones lumínicas de distinto color (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

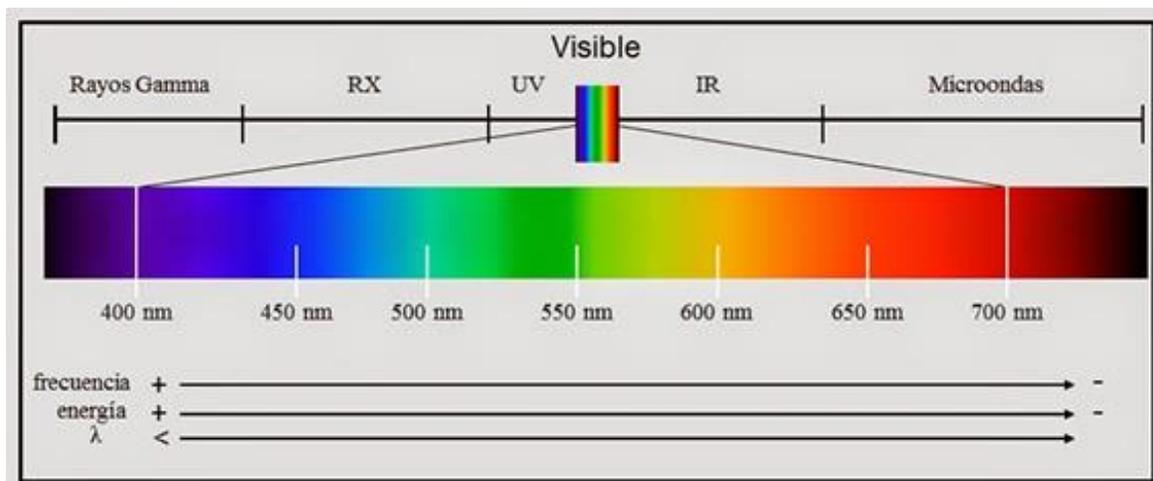


Figura 6 Ilustración del espectro de luz visible. **RX**: Rayos X. **UV**: Ultravioletas. **IR**: Infrarrojos. **nm**: nanómetros. λ : Letra griega lambda que refiere a la longitud de una onda.

Dentro de la radiación PAR, el 15% corresponde a la longitud de onda del verde y es reflejada por las hojas, mientras que el restante 85% puede utilizarse en el proceso fotosintético (Buchanan et al. 2015, Taiz et al. 2015). Asimismo, Nobel (2009) argumenta que en plantas expuestas a luz solar moderada y bajo ningún tipo de estrés ambiental, el 83% de la excitación de pigmentos accesorios y de la clor_a en el PSII es usada para la fase fotoquímica de la fotosíntesis.

Para la fotosíntesis, el pigmento más importante es la clorofila, ya que es la biomolécula cromófora que interviene más directamente en el proceso de absorción y conversión de la energía luminosa (Azcón-Bieto & Talón, 2013). Debido a su estructura molecular, son capaces de absorber la radiación lumínica en la zona del azul y también en la zona del rojo (Azcón-Bieto & Talón, 2013; Blankenship, 2014). Por otro lado, se encuentran los carotenoides, que presentan una función fotosintética principal de proteger el aparato fotosensible mediante mecanismos de disipación y extinción de energía. Aunque de modo secundario, también tienen la función de ser antenas alternativas (Blankenship, 2014), sobre todo en el espectro de luz entre 450 y 500 nm, en el cual las clorofilas absorben poco (Nobel, 2009; Azcón-Bieto & Talón, 2013). Es así que ambientes lumínicos con diferente composición espectral generan cambios en la fotosíntesis debido a respuestas diferenciales de los pigmentos captadores de luz a longitudes de ondas del espectro. A su vez, esos ambientes diferentes afectan el balance fotosintético modificando el rendimiento cuántico a nivel de planta y de aparato fotosintético (Quero et al., 2019).

La luz azul es vital para el crecimiento y desarrollo de las plantas, en parte debido a que fotorreceptores de dicha luz participan en diversos eventos fotomorfogénicos, y en otra gran medida a que la luz azul generalmente promueve mayor apertura estomática que luces de

otras longitudes de ondas (Matsuda et al., 2004). Asimismo, estudios previos han demostrado que la luz azul provocaría un aumento del contenido total de nitrógeno en hojas, que se traduciría en mayores cantidades de componentes fotosintéticos, como la enzima RuBisCO o el pigmento clorofila, y por ende en una mayor tasa fotosintética, en comparación con el efecto de la luz roja (Buschmann et al., 1977; Matsuda et al., 2004; Li et al., 2020). A su vez, Buschmann et al. (1977) encontraron diferencias en la ultraestructura de cloroplastos crecidos bajo luz azul de aquellos crecidos bajo luz roja, donde los primeros presentaron menor contenido de lamelas en grana. Esto se traduciría en una mayor actividad fotosintética de los cloroplastos de luz azul (Buschmann et al., 1977), debido a que los PSII tienden a concentrarse en las granas, mientras que los PSI lo hacen en los tilacoides estromáticos (Azcón-Bieto & Talón, 2013). Una mayor concentración de PSII en las granas implicaría una mayor fuente de electrones hacia los PSI provocando así un exceso energético que superaría la demanda electrónica del PSI (Azcón-Bieto & Talón, 2013), causando mayor disipación térmica de la energía (Azcón-Bieto & Talón, 2013; Lazár, 2015). Además, la luz azul promueve la síntesis de enzimas fotoprotectoras encargadas de la captura de EROs que potencian el sistema antioxidante de la célula, fotoprotegiendo el aparato fotosintético (Li et al., 2020). A su vez, Ye et al. (2017) encontraron que plantas desarrolladas en un ambiente azul, presentaban mayores contenidos de enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la peroxidasa (POD), que plantas desarrolladas en un ambiente rojo.

La luz roja es considerada el color más eficiente para potenciar la fotosíntesis. Sin embargo, si la planta crece estrictamente en luz roja, su crecimiento y desarrollo puede verse seriamente afectado, con síntomas como menor conductancia estomática, menor asimilación de CO₂, menor rendimiento cuántico del PSII y mayor disipación térmica de la energía (Mackowiak et al., 2001; Kaiser et al., 2019; Landi et al., 2020). Asimismo, la luz roja afecta el contenido de pigmentos de la hoja, disminuyendo la cantidad de carotenoides (Landi et al., 2020) y disminuyendo la relación *clorofila a/clorofila b*, mediante la disminución del contenido de clorofila a (Fan et al., 2013), y el aumento del contenido de clorofila b en comparación con plantas crecidas en luz azul (Fan et al., 2013, Zheng & van Labeke, 2017). Además, estudios previos han demostrado que plantas crecidas bajo luz roja pura, presentaron contenidos bajo de RuBisCO en comparación con plantas crecidas en luz azul (Matsuda et al., 2004, Izzo et al., 2020).



1.3 Fluorescencia de la Clorofila

Como fue mencionado anteriormente, la energía lumínica absorbida es convertida con una alta eficiencia en energía química; mientras que una pequeña porción es, sin embargo, disipada como calor -producto de conversiones internas-, y como fluorescencia (Figura 7).

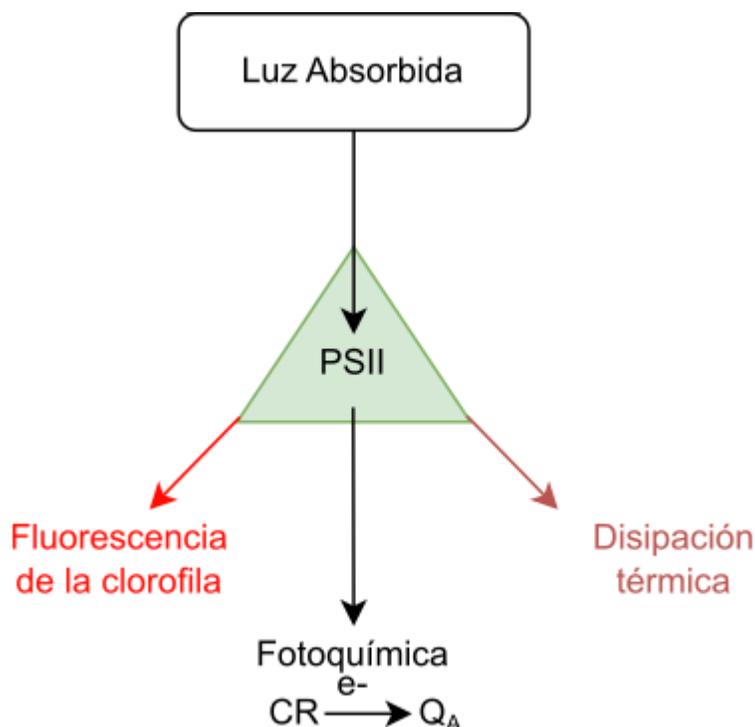


Figura 7 Modelo de los posibles destinos de la luz absorbida por el fotosistema II (PSII). La luz absorbida puede ser usada para conducir la fase fotoquímica, donde un electrón (e^-) del centro de reacción del PSII (CR) es transferido a la primera quinona aceptora del PSII (Q_A). Alternativamente, la energía puede disiparse como fluorescencia de la clorofila o como calor. Los procesos de fotoquímica, fluorescencia de la clorofila, y disipación térmica compiten directamente por la energía de excitación absorbida. Si la tasa de uno de los procesos aumenta, la tasa de los dos restantes disminuye. Adaptado de Baker (2008).

Dicha fluorescencia es la desexcitación radiativa de una molécula en su estado excitado hacia su estado basal (Kasajima et al., 2009; Lazár et al., 2019). En las plantas, dicho fenómeno ocurre en las moléculas de chl_a (Nobel, 2009; Lazár et al., 2019), cuando el fotón absorbido puede reemitirse en forma radiante como fotón visible de menor energía que el que causó la formación del estado excitado (Azcón-Bieto & Talón, 2013). A su vez, fotones de diferente longitud de onda provocan distintos estados energéticos excitados. Un fotón azul provoca un estado energético excitado mayor que el que provoca un fotón rojo. Sin embargo, en ambos estados se da la emisión de fluorescencia si finalmente se retorna al estado basal (Taiz & Zeiger, 2002; Lazár, 2015).

Actualmente, la fluorescencia de la clorofila (FIClor) puede ser detectada mediante el uso de equipos de medición, como fluorómetros (Kasajima et al., 2009; Goltsev et al., 2016; Kalaji et al., 2017), y su análisis es de importancia en investigaciones sobre fotosíntesis, ya que se ha demostrado que la FIClor se ve afectada, directa o indirectamente, por varios procesos físicos y bioquímicos que ocurren durante la fotosíntesis (Lazár et al., 2019). Es así que, en la fase fotoquímica de la fotosíntesis, la eficiencia del uso de la luz a nivel de aparato fotosintético -o rendimiento cuántico Φ -, puede ser estudiado a partir de la emisión fluorescente de la clorofila en el PSII (Genty et al., 1989; Baker, 2008; Lazár, 2015; Quero et al., 2019). Cabe agregar que el PSI también puede emitir fluorescencia (Baker, 2008; Lazár, 2015; Lazár et al., 2019), pudiendo tomar relevancia cuando las longitudes de onda de la luz absorbida supera los 700 nm (Baker, 2008).

1.3.1 Técnica PAM

La ChIF es mayormente medida mediante la técnica de modulación por amplitud de pulso (PAM: Pulse Amplitude Modulation). En dicha técnica, la medición de la ChIF se logra mediante el uso de dos fuentes de luz durante las mediciones, una luz que permite la ocurrencia de la fotosíntesis y otra que excita y mide la fluorescencia. La luz que conduce la fotosíntesis puede ser luz actínica (LA) continua -es decir luz que es absorbida por el aparato fotosintético y permite el transporte de electrones (Baker, 2008)-, pulsos saturantes de corta duración -máximo 1 segundo- que provocan la reducción de la Q_A , o bien luz con longitudes de onda en el rojo-lejano que provocan la oxidación de la cadena de transporte de electrones (Lazár, 2015). El uso de un protocolo PAM, es decir una combinación de dichos tres tipos de luz, permite obtener una curva de fluorescencia (Figura 8), de la cual a partir de ella se obtendrá la partición de la energía del PSII (Baker, 2008; Lazár, 2015).

El uso de pulsos saturantes provoca la reducción máxima de la Q_A , permitiendo observar el máximo nivel de fluorescencia. Cuando la Q_A se encuentra reducida, los CR de los PSII son definidos como “cerrados”. Por otro lado, el uso de pulsos de rojo-lejano provocan la excitación de los PSI, que se traduce en la oxidación de la PQ y de la Q_A asociada al PSII -y se observan los niveles mínimos de fluorescencia tanto en luz como en oscuridad-. Esto provoca la apertura de los CR de los PSII, permitiendo que suceda el transporte de electrones. De esta manera, los CR de los PSII son catalogados como “abiertos” (Baker, 2008; Kasajima et al., 2009; Lazár, 2015; Lazár et al., 2019).

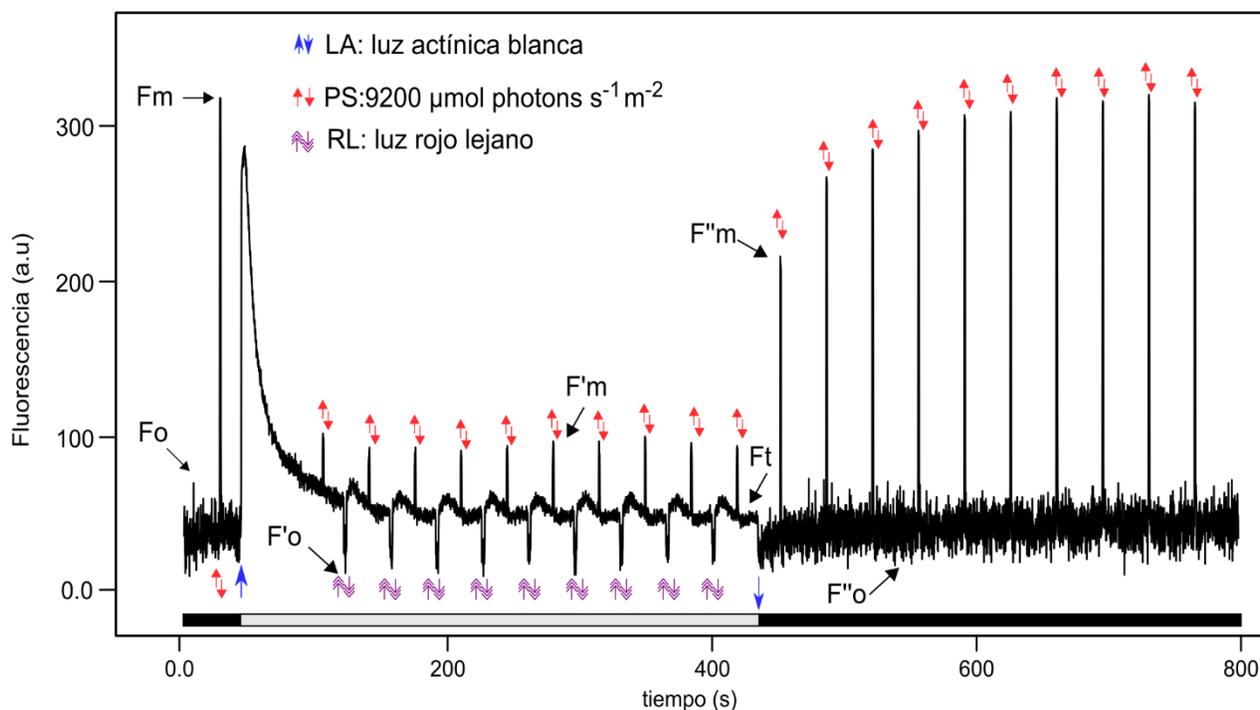


Figura 8 Análisis de *quenching* de la fluorescencia seguido de un análisis de relajación, mediante el uso de la técnica PAM. Una hoja aclimatada en oscuridad, es expuesta a luz actínica (LA). Flechas azules hacia arriba y hacia abajo, indican que AL se prende y apaga respectivamente. Flechas rojas indican la posición a la que tienen lugar los pulsos saturantes (SP). Dobles flechas lilas indican la posición de pulsos de luz roja-lejana. F_o , $F'o$ y $F''o$ representan la fluorescencia mínima en oscuridad, luz y fase de recuperación, respectivamente. F_t es la fluorescencia actual de una hoja en luz para un tiempo t . F_m y $F'm$ representan la fluorescencia máxima en condiciones de oscuridad y luz respectivamente. $F''m$ es la fluorescencia máxima en condiciones de oscuridad durante el período de recuperación.

La curva de fluorescencia puede ser dividida en tres tramos: el comprendido entre el inicio de la medición y el encendido de la LA, el de *quenching* de la fluorescencia que comprende al tiempo en el que la LA se encuentra encendida, y el de relajación que comprende al tiempo posterior al que la LA es apagada (Kasajima et al., 2009; Lazár, 2015; Quero et al., 2019).

El término *quenching* significa atenuación, y hace referencia a la atenuación de la señal de fluorescencia debido a procesos fotoquímicos y no-fotoquímicos (Genty et al., 1989; Baker, 2008; Kasajima et al., 2009; Lazár, 2015).

1.4 Partición de la Energía

La luz absorbida por el PSII tiene tres destinos diferentes: transferirse como energía a la fase fotoquímica, emitirse como fluorescencia o disiparse como calor. A su vez, la disipación térmica se divide en dos: disipación regulada inducida por luz y disipación basal no regulada. Esta división de la energía que llega al PSII es denominada partición de la energía, y refleja como el PSII administra la energía absorbida, es decir cuánto de ella se destina a cada uno de los procesos mencionados (Lazár, 2015). La medición de la ChlF se torna crucial en el estudio de la partición de la energía, pues desde el punto de vista de la ChlF, los otros destinos de la energía representan procesos competitivos que causan el *quenching* de la señal de fluorescencia (Lazár, 2015).

El análisis de *quenching* determina el rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}), la disipación no basal (Φ_{NPQ}) y la disipación basal de energía (Φ_{NO}). El análisis conjunto es denominado análisis de partición de la energía y es de suma importancia porque permite revelar el destino de la energía incidente y discriminar procesos fotoquímicos y de disipación de aquellos procesos de fotoinhibición.

Un rendimiento cuántico Φ es calculado como:

$$\Phi = \frac{k}{\sum k}$$

donde k es la tasa constante de un proceso dado (fotoquímico o no-fotoquímico), y $\sum k$ es la sumatoria de todas las tasas constantes de los procesos de desactivación de la energía lumínica absorbida (Lazár, 2015). En otros términos, es el número de moléculas que se destinan a un proceso, dividido el número de fotones absorbidos por el sistema. Un rendimiento cuántico Φ es un número entre 0 y 1, donde la sumatoria de todos los rendimientos cuánticos es igual a 1. Es así que esto se transforma en una ventaja a la hora de evaluar los rendimientos cuánticos de la partición de la energía fotosintética, ya que se obtiene la fracción del total de la energía absorbida que es destinada para un proceso particular, además sus valores se pueden comparar directamente (Kramer et al, 2004; Kasajima et al., 2009; Lazár, 2015; Quero et al., 2019).

El Φ_{PSII} está directamente relacionado a la tasa de transferencia de electrones en el PSII hacia procesos bioquímicos; el Φ_{NPQ} refleja el rendimiento cuántico del *quenching* no fotoquímico no basal; y el Φ_{NO} refleja el rendimiento cuántico de procesos de disipación basal y no-fotoquímicos. En la otra mano, el análisis de relajación permite descomponer el parámetro Φ_{NPQ} en dos: por un lado, el rendimiento cuántico del *quenching* no fotoquímico no basal de rápida relajación (Φ_{NPQfast}) y el rendimiento cuántico del *quenching* no fotoquímico no basal de lenta relajación (Φ_{NPQslow}). El Φ_{NPQfast} está relacionado a la disipación de energía regulada por el PSII (Quero et al., 2019). Mientras que el Φ_{NPQslow} es atribuido a un efecto más sostenido del exceso de luz. Además el Φ_{NPQslow} es usualmente mucho menor que el Φ_{NPQfast} .



Se ha sugerido que tanto el $\Phi_{NPQslow}$ como el $\Phi_{NPQfast}$, pueden no ser efecto de un estrés lumínico excesivo, sino respuestas adaptativas a él (Ruban et al., 1993). Entonces el *quenching* debido a CR fotoinhibidos podría ser útil como respuesta que provee fotoprotección del complejo antena y de la membrana tilacoidal (Chow et al., 2002). Sin embargo, Quero et al. (2019) proponen que el $\Phi_{NPQslow}$ estaría vinculado al daño del PSII causado por fotoinhibición en lugar de regulación.

Asimismo, la fórmula matemática de la sumatoria de rendimientos cuánticos queda determinada de la siguiente manera, (Kasajima et al., 2009):

$$\Phi_{PSII} + \Phi_{NPQ} + \Phi_{NO} = 1$$

donde

$$\Phi_{NPQ} = \Phi_{NPQfast} + \Phi_{NPQslow}$$

1.4.1 Subparámetros de Partición de la Energía

A su vez, mediante el análisis de *quenching* se obtienen 4 parámetros adicionales de importancia a la hora de analizar la dinámica fotosintética del PSII y la partición de la energía en él. Por un lado, el Φ_{PSII} se descompone en dos parámetros, Φ_{qp} y Φ_{qs} , Φ_{qp} refiere al rendimiento cuántico debido a la porción de CR abiertos (Maxwell & Johnson, 2000; Baker, 2008; Lazár, 2015). Mientras que Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos -oxidados- (Kato et al., 2003; Baker, 2008).

Por otro lado, el Φ_{NO} también se descompone en dos parámetros adicionales: el $\Phi_{NObasal}$ que hace referencia a la disipación térmica producto de PSII inactivos, y el Φ_{NOpsII} que refiere a la disipación térmica basal de PSII activos (Hikosaka et al., 2004).

1.5 Soja - *Glycine max* (L.) Merr

La soja (*Glycine max* (L.) Merr.) pertenece a la familia de las leguminosas (Fabaceae) y es originaria de Asia oriental. Esta especie es de gran importancia agrícola a nivel mundial, siendo uno de los cultivos más importantes. Fue obtenida mediante la domesticación de la especie salvaje *Glycine soja* hace unos 3000-5000 años (Xu et al., 2020). El principal uso es en la alimentación humana y animal, por su aporte en proteínas y aceite. Asimismo, es considerada una especie valiosa para la obtención de biocombustibles y la conservación de los suelos por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico mediante la asociación simbiótica con rizobios (Schmutz et al., 2010; Shablico, 2018). A nivel mundial el cultivo de soja tuvo una gran expansión en los últimos veinte años, dinamizado por la creciente demanda de alimentos de alto valor proteico. La producción mundial de granos de soja fue de 352.6 millones de

toneladas en 2017 (Sobko et al., 2020). En Uruguay este cultivo consolida su desarrollo a partir del año 2000 con 12 mil hectáreas de siembra, que evolucionaron a 917 mil hectáreas sembradas según estadísticas publicadas recientemente por el MGAP, constituyendo en la actualidad el principal cultivo agrícola del país, aportando casi el 90% del área de siembra de verano (DIEA, 2021).

Si bien existen diversos trabajos que estudian el efecto de la intensidad lumínica sobre la respuesta fotosintética en hojas de soja, poco se conoce sobre el efecto que tiene la composición espectral del ambiente lumínico sobre las mismas. Es por ello que la elección de soja como modelo para estudios prospectivos en la respuesta fotosintética a distintos ambientes lumínicos es oportuna. En parte debido a la poca información referida al tema, y en otra gran parte debido a la importancia agronómica del cultivo sojero, siendo que a partir de este trabajo se puede arrojar luz sobre la fisiología de la planta y del cultivo y así desprenderse ulteriores estudios.

1.6 Hipótesis y Objetivos

La hipótesis que subyace este trabajo es que la calidad espectral del ambiente lumínico de desarrollo de una hoja funcional de soja determina la partición de la energía en el PSII.

1.6.1 Objetivo General

Evaluar la respuesta a nivel fotosintético de hojas de soja crecidas y desarrolladas en diferentes ambientes lumínicos.

1.6.1 Objetivos Específicos

1. Determinar los mecanismos de partición de energía del PSII en respuesta a diferentes composiciones espectrales del ambiente lumínico en soja.
2. Identificar si existe respuesta diferencial de dos genotipos de soja en los procesos de partición de energía del PSII.



2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

Dos genotipos de soja (*Glycine max* (L.) Merr.; “Don Mario 6.8i, Barraca Erro S.A” y “Génesis 5601, Grupo Soja e INIA”) fueron crecidos bajo condiciones controladas en una cámara de crecimiento. Las plantas crecieron desde semilla en un sustrato arena/vermiculita (1:1) en macetas con dimensiones de 0.06 m de diámetro x 0.18 m de alto. Se regaron cada 2-3 días con medio B y D (ver Anexo) (Broughton & Dilworth, 1971), suplementado con KNO_3 (concentración final 5 mM) hasta completar Capacidad de Campo (CC). Se colocó una tapita en la botella -con un agujero para el pasaje de la planta- de forma de evitar la evaporación de agua desde el sustrato. Para determinar el peso del sustrato a CC se dejaron 6 macetas con sustrato saturado, y se las pesó una vez pasadas 72 horas. Se colocó una bolsa opaca sobre la maceta para evitar posibles pérdidas de agua por evaporación durante dichas 72 horas. Las semillas utilizadas eran certificadas, provenientes del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y cedidas por Sergio Ceretta (Plan de mejoramiento de soja, INIA).

Las plantas se desarrollaron en una cámara cuyo sistema de iluminación estuvo basado en lámparas de halogenuro metálico hasta que el tercer verticilo (V3) se encontrase totalmente expandido. De acuerdo a Fehr et al. (1971), un verticilo se encuentra totalmente expandido cuando los folíolos del primordio foliar siguiente se encuentran separados. Posteriormente, las plantas fueron transferidas -si correspondía- para que el cuarto verticilo (V4) se desarrolle en un ambiente lumínico diferente (ver detalles de ambientes lumínicos en sección 2.1.1).

Las temperaturas y humedades relativas durante el desarrollo de V3 y V4 se detalla en la Tabla 1. En todos los casos el fotoperíodo fue de 16/8 h luz/oscuridad.

2.1.1 Temperatura, Humedad Relativa y Déficit de Presión de Vapor

La temperatura fue similar para los cuatro ambientes lumínicos -tanto en el desarrollo de la planta hasta V3, como en el desarrollo de V4-, presentando valores medios entre 25.6-27.0°C. La humedad relativa fue similar para los ambientes Blanco2, Rojos y Azules, estando sus medias en el rango de 48.2-51.6%. Mientras que la humedad relativa en el ambiente Blanco1 fue menor -39.5%-, la que se correspondió con el valor para el período hasta V3 -38.7%-. Asimismo, comparando los ambientes de crecimiento de V4, el déficit de presión de vapor fue máximo para Blanco1, con un valor de 2.19 kPa. Mientras que para Blanco2, Rojos y Azules presentó un valor medio entre 1.60-1.78 kPa (Tabla 1)

Tabla 1 Temperatura, Humedad Relativa y Déficit de Presión de Vapor: media y desvío estándar en función de cada ambiente lumínico y período de crecimiento.

	V3	V4			
	*	Blanco1	Blanco2	Rojos	Azules
Temperatura (°C)	26.5 ± 2.87	27.0 ± 1.4	25.6 ± 1.4	25.6 ± 1.4	26.3 ± 1.3
HR (%)	38.7 ± 12.3	39.5 ± 7.7	50.6 ± 8.4	51.6 ± 8.0	48.2 ± 6.1
DPV (kPa)	2.19 ± 0.62	2.18 ± 0.34	1.63 ± 0.33	1.60 ± 0.33	1.78 ± 0.25

HR: Humedad Relativa. DPV: Déficit de Presión de Vapor.

V3 comprende el período de crecimiento hasta que el verticilo 3 se encontró totalmente expandido.

V4 comprende el período de crecimiento del verticilo 4.

2.1.2 Ambientes Lumínicos: intensidad y calidad espectral

Se definieron un total de cuatro ambientes: Blanco1 (B1), Blanco2 (B2), Rojos(R) y Azules (A). El ambiente Blanco1 fue producto de la irradiancia de lámparas de halogenuro metálico. Mientras que en los restantes se utilizaron sistemas lumínicos basados en luces LED. En el caso del ambiente Blanco2, se utilizó un sistema diseñado con LEDs blancas y rojas. Para los ambientes Rojos y Azules, se utilizó un sistema con luces de siete colores, que permiten descomponer el espectro lumínico en siete bandas dentro de la región PAR. En la Figura 9 se muestran las plantas desarrollándose en los diferentes ambientes. La potencia lumínica de los cuatro ambientes fue la misma y fue definida en función del ambiente Blanco1. La potencia lumínica y calidad espectral de todos los ambientes fue medida utilizando un espectralradiómetro (USB2000+ spectrometer, Ocean Optics, Duiven, The Netherlands), que se colocó a 30 cm del centro de las fuentes de luz.



Figura 9 Plantas creciendo en los cuatro ambientes lumínicos y medición con fluorómetro PAM. **A.** Plantas creciendo en Ambiente Blanco1. **B.** Medición de fluorescencia de la clorofila del verticilo cuatro mediante fluorómetro PAM. **C, D y E** Plantas creciendo en ambientes lumínicos Blanco2, Rojos y Azules respectivamente.

2.2 Fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila fue obtenida en vivo utilizando un fluorómetro de amplitud modulada (PAM) (FMS1, Hansatech, King's Lynn, UK). En el análisis de *quenching* se emplearon tres niveles de luz actínica blanca: 200, 400 y 850 $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las mediciones se realizaron en V4 completamente expandido. Las condiciones de medición de fluorescencia fueron las mismas que las condiciones ambientales respectivas para cada ensayo.

2.3 Partición de la energía: análisis de *quenching* y de relajación

La cuantificación de la partición de la energía en el PSII se determinó utilizando los parámetros de la fluorescencia de la clorofila. Para este propósito se realizó un análisis de *quenching* -plantas bajo luz-, seguido de un análisis de relajación -plantas en oscuridad luego del período de luz- del PSII (Kasajima et al., 2009; Lazár, 2015).

El análisis de *quenching* del Φ_{PSII} fue calculado con la ecuación [1], (Genty et al., 1998; Baker, 2008). Φ_{NPQ} y Φ_{NO} fueron calculados con las ecuaciones [2] y [5] respectivamente, (Hendrickson et al., 2005; Klughammer & Schreiber, 2008). En el análisis de relajación del PSII, los rendimientos cuánticos $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$ fueron calculados con las ecuaciones [3] y [4] respectivamente (Kasajima et al., 2009).

$$[1] \Phi_{PSII} = \frac{Fm' - Ft}{Fm'}$$

$$[2] \Phi_{NPQ} = \frac{Ft}{Fm'} - \frac{Ft}{Fm}$$

$$[3] \Phi_{NPQfast} = \frac{Ft}{Fm'} - \frac{Ft}{Fm''}$$

$$[4] \Phi_{NPQslow} = \frac{Ft}{Fm''} - \frac{Ft}{Fm}$$

$$[5] \Phi_{NO} = \frac{Ft}{Fm}$$

Por otro lado, los subparámetros fueron calculados de la siguiente manera: Φ_{qp} y Φ_{qs} fueron calculados con las ecuaciones [6] y [7] respectivamente (Maxwell & Johnson, 2000; Baker, 2008; Lazár, 2015). Mientras que Φ_{NOpsII} y el $\Phi_{NObasal}$ lo fueron con las ecuaciones [8] y [9] (Hikosaka et al., 2004).

$$[6] \Phi_{qp} = \frac{Fm' - Ft}{Fm' - Fo'}$$

$$[7] \Phi_{qs} = \frac{Fm' - Fo'}{Fm'}$$

$$[8] \Phi_{NOpsII} = \frac{Ft - Fo'}{Fm}$$

$$[9] \Phi_{NObasal} = \frac{Fo'}{Fm}$$

2.4 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El experimento fue instalado bajo un diseño completamente aleatorizado (DCA), con cuatro repeticiones por tratamiento. El tratamiento queda definido por la interacción entre los niveles del factor genotipo (Don Mario 6.8i y Génesis 5601), los niveles del factor ambiente lumínico (Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules) y niveles del factor luz actínica (200, 400 y 850 $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$).



Para el análisis estadístico se usó un modelo lineal general con arreglo factorial. Luego de la verificación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer si hubo efecto significativo de alguna de las fuentes de variación. Las diferencias entre las medias de los tratamientos identificados como significativos fueron analizadas mediante análisis de contrastes ($P < 0.05$).

El modelo lineal general fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + AL_i + LA_j + G_k + (AL * LA)_{ij} + (AL * G)_{ik} + (LA * G)_{jk} + (AL * LA * G)_{ijk} + Error_{ijk}$$

Donde:

AL_i es el efecto del i-ésimo ambiente lumínico (Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules).

LA_j es el efecto del j-ésimo nivel de actínica (200, 400 y 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

G_k es el efecto del k-ésimo nivel de genotipo (Don Mario 6.8i y Génesis 5601).

$(AL * LA)_{ij}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de AL y el j-ésimo nivel de LA.

$(AL * G)_{ik}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de AL y el k-ésimo nivel de G.

$(LA * G)_{jk}$ es la interacción entre el j-ésimo nivel de LA y el k-ésimo nivel de G.

$(AL * LA * G)_{ijk}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de AL, el j-ésimo nivel de LA y el k-ésimo nivel de G.

$Error_{ijk}$ es el error asociado a cada unidad experimental.

Los análisis estadísticos se hicieron en R utilizando el paquete *stats* (R Core Team, 2017). El análisis de contrastes ortogonales se realizó usando el paquete de R *emmeans* (Russell, 2018). Posteriormente, con el objetivo de reducir las 9 dimensiones -producto de los 9 parámetros asociados a la partición de la energía en el PSII- se realizó un análisis de componentes principales. Para visualizar la correlación entre los subparámetros por ambiente y genotipo, se hicieron grafos donde los nodos representan los parámetros de partición de energía y las aristas representan las correlaciones entre ellos. El análisis de componentes principales (PCA) se realizó utilizando el paquete *FactoMineR* (Lê, S. et al., 2008). Los grafos se realizaron utilizando el paquete de R *tidygraph* (Pedersen, 2020).

3. RESULTADOS

3.1 Ambientes Lumínicos

En la Figura 10 se muestra la distribución espectral de la potencia en función de la longitud de onda de los cuatro ambientes lumínicos evaluados. El análisis cuantitativo de dichos espectros se detalla en la Tabla 2.

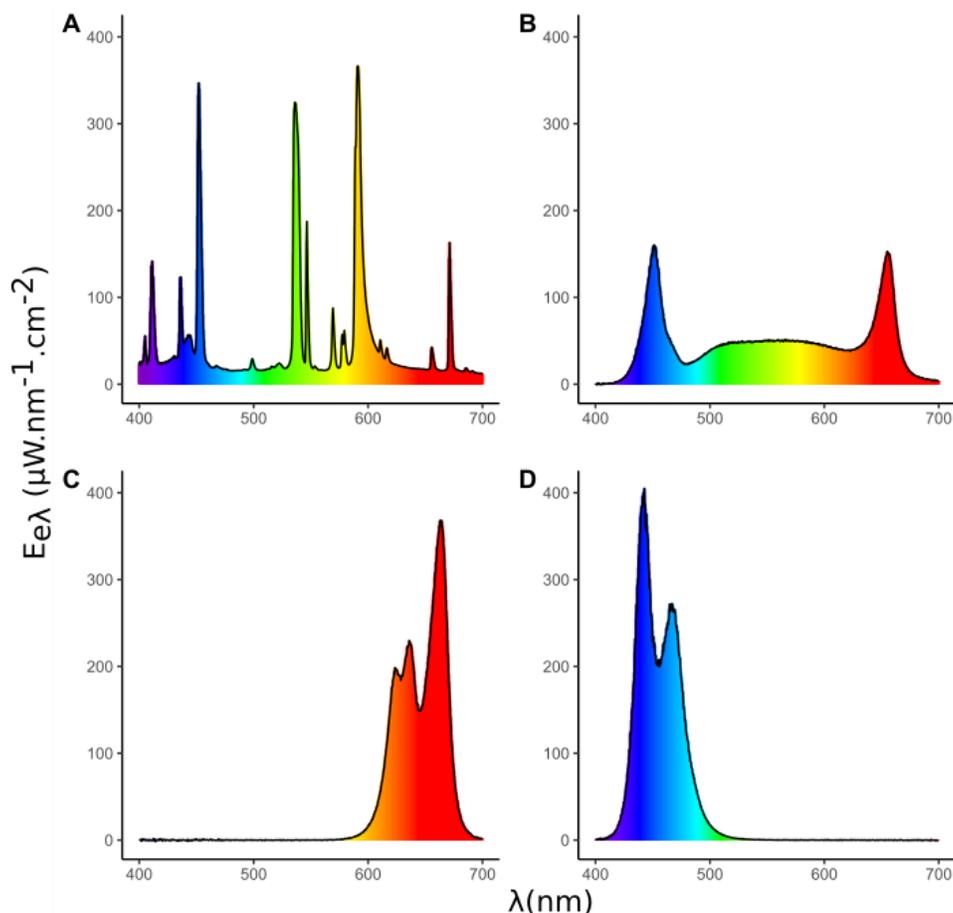


Figura 10 Distribución de la composición espectral de ambientes lumínicos ilustrada como potencia ($E_{e\lambda}$) en función de la longitud de onda (λ). **A.** Ambiente Blanco1. **B.** Ambiente Blanco2. **C.** Ambiente Rojos. **D.** Ambiente Azules.

La Tabla 2 muestra la intensidad lumínica de los cuatro ambientes lumínicos ilustrados en la Figura 10. Se detalla la potencia, el PPFD y el intervalo de longitudes de onda que emitieron las luces generadoras del ambiente. El PPFD fue relativamente distinto a pesar de presentar potencias similares. Esto se debe a que el cálculo de PPFD tiene en cuenta y es directamente proporcional a la longitud de onda de la luz. Por lo tanto, el ambiente Rojos fue el de mayor PPFD, justamente por las longitudes de onda más amplias que caracterizan a las luces rojas. Mientras que el ambiente Azules fue el de menor PPFD debido a presentar longitudes de ondas menores, características de la luz azul. El PPFD de los ambientes Blancos



fue similar entre ellos. Sin embargo, la energía en cada ambiente fue similar, donde los cuatro ambientes presentaron una potencia dentro del rango de 137.22-140.89 W m⁻².

Tabla 2 Intensidad lumínica, como potencia y densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD), de los cuatro ambientes lumínicos, junto con el intervalo de longitudes de onda.

Ambiente	Intervalo de λ^* (nm)	Potencia (W m⁻²)	PPFD (μmoles fotones m⁻² s⁻¹)
Blanco1	400-700	137.24	620.2
Blanco2	400-700	137.22	635.8
Rojos	585-700	138.07	745.3
Azules	400-560	140.89	537.7

*Letra griega lambda utilizada para referirse a la longitud de una onda

Asimismo, en la Tabla 3 se observa la potencia lumínica de los ambientes para cada uno de los intervalos de longitudes de onda definidos por Nobel (2009). Los ambientes Blanco1 y Blanco2 mostraron similares potencias para los intervalos comprendidos entre 425 y 585 nanómetros, variando para los restantes intervalos. En el ambiente Rojos se encontraron las potencias máximas para los intervalos de 585-640 nm y 640-700 nm. El primero presentó un 39.3% de la energía total, siendo más del doble que la observada en Blanco2 para dicho intervalo -17.54%-. Mientras que la potencia observada en el intervalo de 640-700 nm para Rojos fue de 60.7% de la energía, casi triplicando la de Blanco2 -22.02%-. Rojos presentó aportes de potencia únicamente en dichos intervalos (585-640 nm y 640-700 nm). Por otro lado, el ambiente Azules mostró energía lumínica en los intervalos comprendidos entre 400 y 560 nm, presentando un máximo en el intervalo de 425-490 nm, con una potencia que representó el 95.05% de la energía total. Esta potencia fue más del triple que la observada en Blanco2 para dicho intervalo -27.47%-

Tabla 3 Descomposición de la potencia en función de los intervalos de longitudes de onda definidos por Nobel (2009) para los ambientes lumínicos generados mediante luces LEDs.

Ambiente	Intervalo de λ^* (nm)					
	400-425	425-490	490-560	560-585	585-640	640-700
Blanco1	7.56	22.2	25.4	5.72	29.11	9.65
Blanco2	0.32	27.47	23.31	8.84	17.54	22.02
Rojos	-	-	-	-	39.3	60.7
Azules	1.57	95.05	3.38	-	-	-

*Letra griega lambda utilizada para referirse a la longitud de una onda.

Las cantidades están expresadas en porcentajes (%) sobre el total de la potencia detallada en la Tabla 2 para cada ambiente.

3.2 Partición de la energía en el PSII

3.2.1 Análisis de Varianza (ANOVA)

El efecto principal de cada factor -Genotipo, Ambiente y Luz Actínica- resultó significativo para los parámetros Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO} . Mientras que el efecto de interacción entre Genotipo y Ambiente resultó significativo para los rendimientos cuánticos Φ_{PSII} y Φ_{NPQ} . No se observó un efecto significativo en la interacción de tercer orden entre los tres factores ni en las interacciones de segundo orden entre Genotipo y Luz Actínica, y Ambiente y Luz Actínica.

3.2.2 Efecto de la Luz Actínica en la Partición de la Energía

El efecto principal de la intensidad de luz actínica sobre los parámetros de rendimiento cuántico es ilustrado en la Figura 11. A medida que aumentó la energía de excitación, aumentaron los procesos disipatorios no basales. El Φ_{PSII} presentó valores de 60, 45 y 30% de la energía total para las intensidades de actínica de 200, 400 y 850 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivamente. Mientras que para el Φ_{NPQ} se observaron valores de 12, 31 y 47% respectivamente. Por otro lado, el Φ_{NO} se mantuvo relativamente constante entre 23-28% de la energía total.

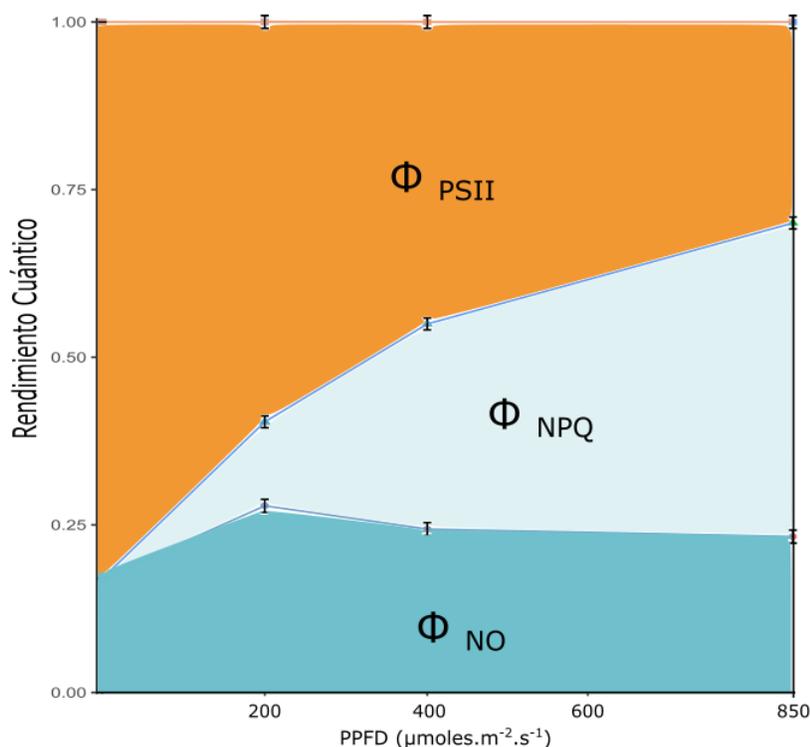


Figura 11 Rendimientos cuánticos generales en función de diferentes densidades de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) de luz actínica. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, y Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación basal. Los rendimientos cuánticos fueron calculados con las ecuaciones [1], [2] y [5] respectivamente (ver Materiales y Métodos). Se presentan las medias ajustadas por análisis de contrastes para tres intensidades: 200, 400, y 850 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los valores a 0 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fueron tomados de la literatura, donde el Φ_{PSII} es 0.83 (Björkman & Demmig, 1987; Baker, 2008) -y corresponde al máximo rendimiento cuántico del PSII en oscuridad de una hoja no estresada-, el Φ_{NPQ} es nulo, y el Φ_{NO} resulta de la resta de $1 - \Phi_{PSII} - \Phi_{NPQ}$ (Kasajima et al., 2009).



3.2.3 Efecto de la Interacción Genotipo y Ambiente Lumínico en la Partición de la Energía

La Figura 12 muestra la partición de la energía en el PSII obtenida con el análisis de *quenching* para los cuatro ambientes lumínicos evaluados en función de los genotipos y de las tres intensidades de luz actínica, donde las figuras 7A, 7B y 7C representan a una luz actínica de 200, 400 y 850 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivamente (LA200, LA 400 y LA850 respectivamente).

Los valores máximos de Φ_{PSII} se observaron en hojas desarrolladas en el ambiente B1 para todas las intensidades de luz actínica (Figura 12).

No se encontraron diferencias significativas entre los genotipos para ninguno de los parámetros (Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO}) en los ambientes B1 y A, en ninguna intensidad de luz actínica (Figura 12).

En LA200 el Φ_{PSII} representó el 74% del destino de la energía en el ambiente B1 (Figura 12A). Mientras que en los otros ambientes los valores de Φ_{PSII} estuvieron entre 41-63% (Tabla S1). En esta intensidad de luz actínica solo hubo diferencias significativas en el Φ_{PSII} del ambiente R, donde para GE tuvo un valor de 41% y en DM un 56% de la energía total. Asimismo, en el ambiente R se encontraron diferencias significativas entre estos genotipos para Φ_{NPQ} y Φ_{NO} . DM presentó menor Φ_{NPQ} y mayor Φ_{NO} que GE (Figura 12A y Tabla Suplementaria 1). A su vez, se encontraron diferencias significativas en el Φ_{NPQ} del ambiente B2, donde DM disipó menor energía de forma regulada que la disipada por GE (14 y 19% respectivamente) (Figura 12A y Tabla Suplementaria 1).

En LA400 (Figura 12B) se mantuvieron las mismas diferencias significativas que en la intensidad de 200 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tanto para el ambiente R como para B2. Además, se sumó que el Φ_{PSII} fue significativamente diferente entre genotipos en el ambiente B2. El 46% de la energía total fue destinada a la fase fotoquímica en el caso de DM. Mientras que GE lo hizo solo con el 34% (Tabla Suplementaria 2).

En LA850 (Figura 12C) se mantuvieron las diferencias significativas entre genotipos para Φ_{NPQ} y Φ_{NO} . Mientras que el Φ_{PSII} presentó diferencias significativas únicamente en el ambiente B2, donde DM destinó mayor cantidad de la energía hacia la fase fotoquímica que GE (46 y 34% respectivamente) (Figura 12C y Tabla Suplementaria 3).

Por otro lado, DM presentó una partición similar de la energía para las tres intensidades de actínica en los ambientes B2 y A, situación que no ocurrió en el caso de GE (Figura 12).

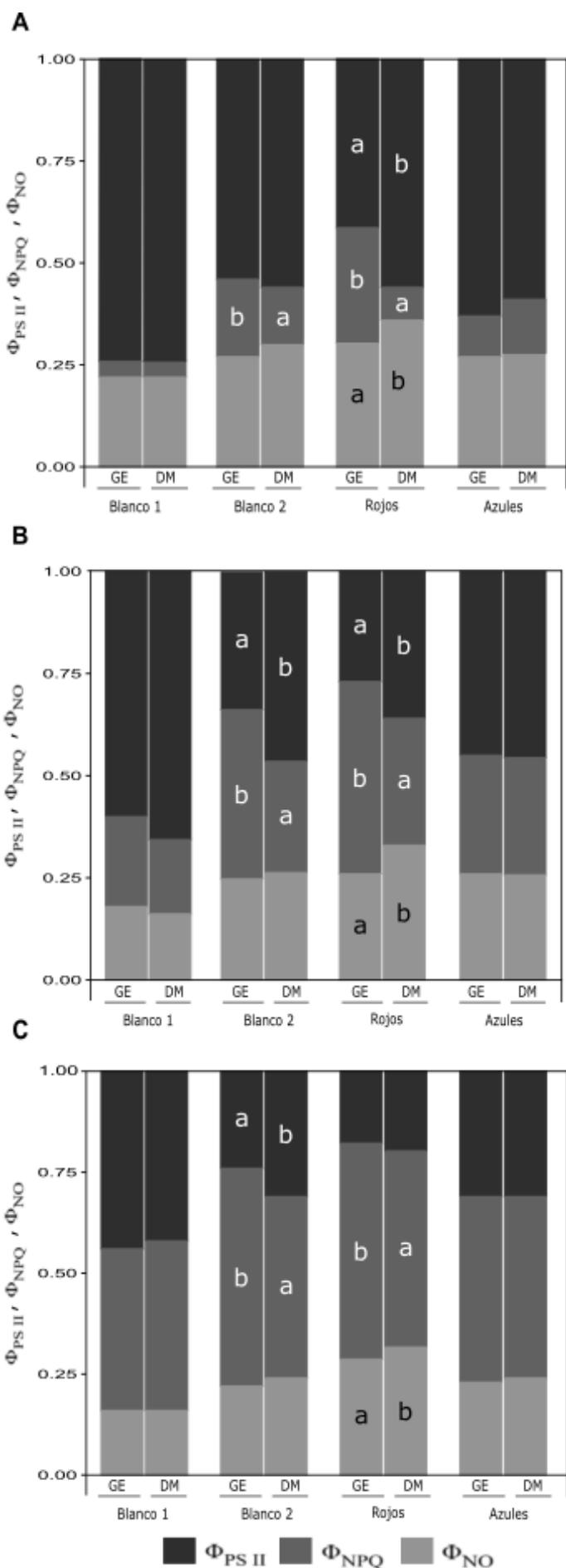


Figura 12 Rendimientos cuánticos de los dos genotipos en función de las tres intensidades de luz actínica y de los cuatro ambientes lumínicos (Blanco 1, Blanco 2, Rojos y Azules). **A, B y C** representan las intensidades de 200, 400 y 850 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivamente. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, y Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación basal **GE**: genotipo Génesis 5601. **DM**: genotipo Don Mario 6.8i. Letras diferentes representan diferencias significativas testeadas por análisis de contrastes entre genotipos por ambiente ($P < 0.05$).



3.3.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Utilizando el criterio de varianza acumulada explicada (Varmuza & Fizmoser, 2009), es decir tantos componentes principales (PCs) como sea necesario para explicar entre un 70-80% (o más) de la varianza total y teniendo por objeto mantener el menor número de PCs posibles, se seleccionaron dos PCs para el análisis de cada ambiente. El primer componente principal (PC1) explicó aproximadamente el 60% de la varianza en todos los ambientes. Mientras que el segundo componente principal (PC2) explicó aproximadamente el 20% (Figura 13). Por tanto, la suma de los dos PCs para cada ambiente estuvo entre el 83 y el 88% (Figura 13).

En todos los ambientes el Φ_{NPQ} fue el parámetro que más contribuyó a la generación del PC1 (más del 15%) (Figura Suplementaria 1). Mientras que el Φ_{NO} o alguno de sus subparámetros (Φ_{NOpsII} o $\Phi_{NObasal}$) explicaron mayormente la composición del PC2 (entre el 35 y 45%) (Figura Suplementaria 2). En los ambientes B1, B2 y A el Φ_{NOpsII} fue quien contribuyó en mayor medida (Figura Suplementaria 2). En tanto que en el ambiente R el mayor contribuyente al PC2 fue el Φ_{NO} (Figura Suplementaria 2).

En todos los ambientes el Φ_{PSII} se correlacionó positivamente con el PC1 y negativamente con el PC2, asociándose siempre en mayor medida con Φ_{qp} que con Φ_{qs} (Figura 13). El Φ_{NPQ} se correlacionó negativamente con el PC1 y positivamente con el PC2 en todos los ambientes, y se correlacionó siempre en mayor medida con el $\Phi_{NPQfast}$ que con el $\Phi_{NPQslow}$ (Figura 13). A su vez, el Φ_{PSII} y el Φ_{NPQ} se correlacionaron negativamente en todos los casos. Por otro lado, el Φ_{NO} correlacionó positivamente con ambos componentes principales en todos los ambientes y no mostró correlaciones ni con el Φ_{PSII} ni con el Φ_{NPQ} . Respecto de sus subparámetros, el Φ_{NO} se correlacionó de manera equivalente con el Φ_{NOpsII} y el $\Phi_{NObasal}$ en todos los ambientes (Figura 13).

Cuando se analizó la respuesta de los genotipos en función de todos los parámetros de partición de energía se observó que los genotipos se ubicaron en diferentes cuadrantes en los ambientes B2 y R (Figura 13B y Figura 13C). En ambos casos DM se ubicó en el cuadrante superior derecho, mientras que GE se ubicó en el cuadrante inferior izquierdo. Esto significa que existe una respuesta genotipo diferencial para los rendimientos cuánticos de hojas desarrolladas en estos ambientes lumínicos.

Por otro lado, es importante observar que hubo una mayor correlación entre los parámetros principales - Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} o Φ_{NO} - y sus subparámetros en el ambiente R (Figura 13C).

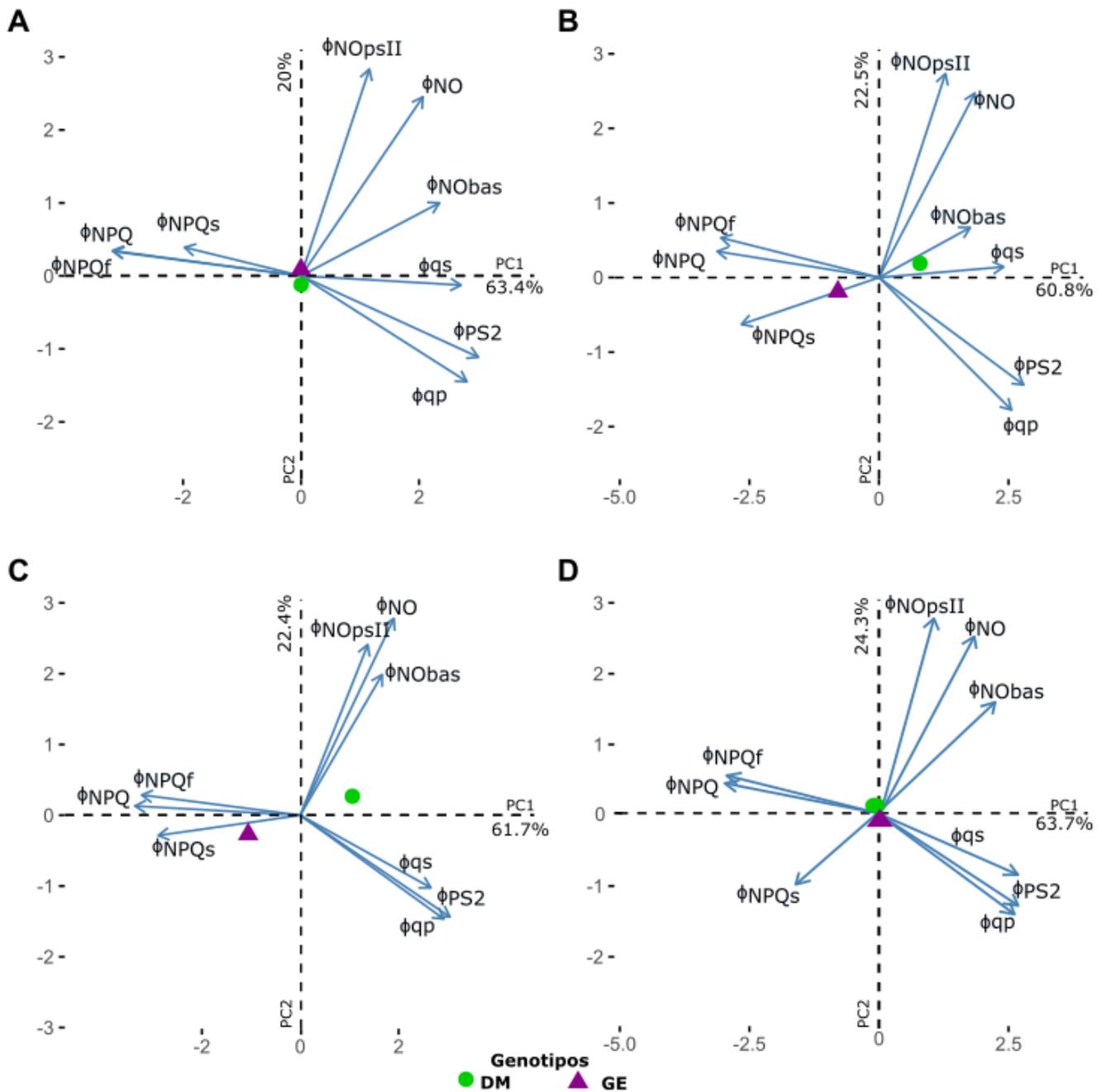


Figura 13 *Biplots* obtenidos mediante análisis de componentes principales (PCA) para los cuatro ambientes lumínicos. **A**, **B**, **C** y **D** corresponde a los *biplots* para los ambientes Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules respectivamente. **DM**: Don Mario 6.8i. **GE**: Génesis 5601. **PC1**: Primero Componente Principal. **PC2**: Segundo Componente Principal. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{qp} es el rendimiento cuántico debido a la porción de CR abiertos, Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, Φ_{NPQf} es el $\Phi_{NPQfast}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de rápida relajación, Φ_{NPQs} es el $\Phi_{NPQslow}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de lenta relajación, Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de la disipación térmica basal, Φ_{NOpsII} es la disipación térmica basal de PSII activos y el Φ_{NObas} es el $\Phi_{NObasal}$ y refiere a la disipación térmica basal producto de PSII inactivos. El porcentaje de aporte de cada componente principal sobre la varianza total está representado sobre cada eje. En el eje de abscisas está el del primer componente principal, y en el eje de ordenadas el del segundo componente principal.



3.3.2 Grafos de Correlación de Parámetros

Como se observa en la Figura 14, las correlaciones de los parámetros de partición de energía en cada ambiente lumínico fueron diferentes entre genotipos. Además, cuando se observan las correlaciones entre ambientes lumínicos por genotipo, también fueron diferentes. Es decir, que tanto en los ambientes en que los genotipos presentaron similar partición de la energía -ambientes B1 y A-, como en los ambientes que los parámetros de partición fueron significativos entre genotipos -ambientes B2 y R-, la dinámica de la partición fue diferente. Esto significa que las estrategias en el manejo de la energía fueron diferentes entre genotipos y que el ambiente lumínico de desarrollo determinó dichas estrategias.

La correlación entre Φ_{qp} y $\Phi_{NPQfast}$ se observó en los dos genotipos para los cuatro ambientes lumínicos y siempre fue negativa (Figura 14). Esto significa que conforme el rendimiento cuántico de los CR abiertos disminuyó, aumentaron los procesos de disipación térmica regulada.

Por otra parte, el genotipo GE presentó una correlación positiva entre Φ_{qp} y Φ_{qs} en los ambientes B1, B2 y A (Figura 14A, Figura 14B y Figura 14D respectivamente). En los mismos ambientes GE presentó una correlación negativa entre Φ_{qs} y $\Phi_{NPQfast}$. No se encontró correlación entre Φ_{qp} y Φ_{qs} ni entre Φ_{qs} y $\Phi_{NPQfast}$ para GE en el ambiente R (Figura 14C). Mientras que en DM la correlación entre los parámetros Φ_{qs} y $\Phi_{NPQfast}$ también fue negativa, y se encontró para los ambientes B1, R y A (Figura 14E, Figura 14F y Figura 14H), pero no para el ambiente B2 (Figura 14F).

A continuación, se expresan las correlaciones diferenciales entre genotipos en cada ambiente lumínico. Es decir, para cada ambiente aquellas correlaciones que se encontraron en un genotipo y no en el otro, y viceversa.

En el ambiente A (Figura 14D y Figura 14H) GE presentó correlaciones positivas entre Φ_{qs} y $\Phi_{NObasal}$ y entre Φ_{qp} y $\Phi_{NObasal}$ (ambas con un R de 0.8) y una correlación negativa entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NObasal}$ (R = -0.8) (Figura 14D). Dichas correlaciones no se encontraron para una hoja de DM desarrollada en el ambiente A (Figura 14H). A su vez, DM no presentó correlaciones que no se encontrasen en GE.

En el ambiente B1 (Figura 14A y Figura 14E), GE presentó una correlación positiva entre Φ_{qp} y Φ_{qs} (R = 0.8) y entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$ (R = 0.9). A su vez, el Φ_{qs} y el $\Phi_{NPQslow}$ se correlacionaron negativamente (R = -0.9) (Figura 14A). Mientras que en DM (Figura 14E) el Φ_{qp} se correlacionó positivamente con el $\Phi_{NObasal}$ (R = 0.8).

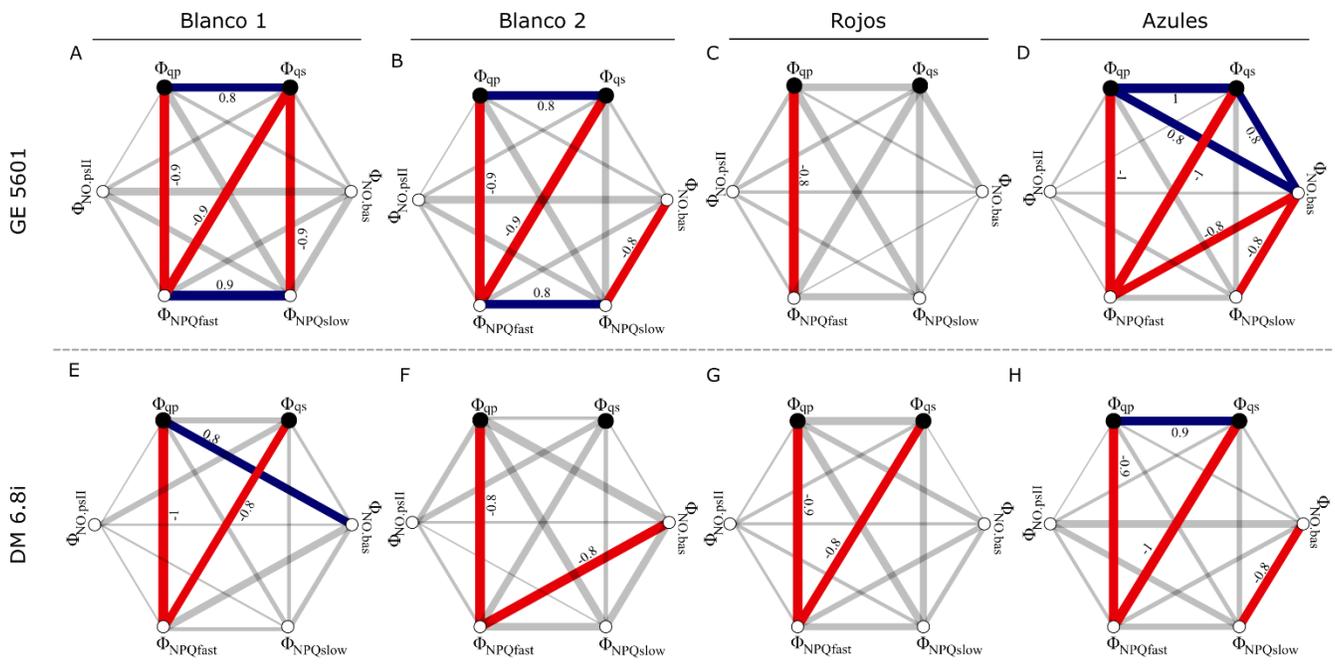


Figura 14 Grafos ilustrando la correlación entre los parámetros de partición para los genotipos en función de los cuatro ambientes lumínicos. **A, B, C y D** refiere a Génesis 5601 (GE 5601) para los ambientes Blanco1 (B1), Blanco2 (B2), Rojos (R) y Azules (A) respectivamente. **E, F, G y H** refiere a Don Mario 6.8i (DM 6.8i) para los ambientes Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules respectivamente. **Líneas Azules** indican correlación positiva. **Líneas Rojas** indican correlación negativa. **Líneas finas** refieren a un bajo grado de correlación, mientras que **líneas gruesas** refieren a un mayor grado de correlación. **Nodos** representan a los parámetros de partición de energía. Φ_{qp} es el rendimiento cuántico de los centros de reacción abiertos, Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos, $\Phi_{NPQfast}$ es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de rápida relajación, $\Phi_{NPQslow}$ es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de lenta relajación, $\Phi_{NO,psII}$ es la disipación térmica basal de PSII activos y el Φ_{NObas} es el $\Phi_{NObasal}$ y refiere a la disipación térmica basal producto de PSII inactivos.

Por otro lado, en el ambiente B2 (Figura 14B y Figura 14F), GE presentó correlación positiva entre Φ_{qp} y Φ_{qs} ($R = 0.8$) y entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$ ($R = 0.8$), y una correlación negativa entre $\Phi_{NPQslow}$ y $\Phi_{NObasal}$ ($R = -0.8$) (Figura 14B). Mientras que DM presentó correlación negativa entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NObasal}$ ($R = -0.8$) (Figura 14F).

Cuando se observan las correlaciones entre parámetros de partición de energía para el ambiente R (Figura 14C y Figura 14G), se tiene que DM presentó una correlación negativa entre $\Phi_{NPQfast}$ y Φ_{qs} ($R = -0.8$) (Figura 14G). En cambio, GE no presentó dicha correlación cuando fue desarrollado en el ambiente R (Figura 14C). A su vez, GE no presentó correlaciones que no se encontrasen en DM.



4. DISCUSIÓN

A medida que aumentó la intensidad de luz actínica, disminuyó el rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}) y aumentó la disipación de la energía por procesos disipativos no basales (Φ_{NPQ}) (**Figura 11**). Es decir que, del total de la energía de excitación, el PSII destinó a la fase fotoquímica una menor proporción de energía comparativamente entre intensidades de luz actínica. En otros términos, a mayores niveles de luz actínica, el PSII puede manejar una menor cantidad de la energía total, debiendo recurrir a procesos de disipación térmica no basal de la energía. Kramer et al. (2004) en plantas de tabaco y Kasajima et al. (2009) en plantas de *Arabidopsis thaliana* presentan los mismos resultados en sus publicaciones.

Lo anterior queda evidenciado tanto en los PCAs (**Figura 13**) como en los grafos (**Figura 14**). En el caso de los PCAs (**Figura 13**), el Φ_{PSII} siempre se correlacionó negativamente con el Φ_{NPQ} , y además, los subparámetros que correlacionaron mayoritariamente con dichos rendimientos fueron Φ_{qp} y Φ_{NPQfast} respectivamente (**Figura 13**). A su vez, en los grafos (**Figura 14**) se observó siempre una correlación negativa entre el rendimiento cuántico de los CR abiertos (Φ_{qp}) y los procesos de disipación de la energía de rápida relajación (Φ_{NPQfast}), indicando que cuando la energía no pudo ser destinada a la fase fotoquímica se debió recurrir a procesos de disipación regulada.

Por tanto, independientemente del ambiente lumínico de desarrollo y del genotipo estudiado, aumentos en la intensidad de excitación provocan menores rendimientos cuánticos de los CR abiertos y mayor disipación térmica regulada. La disminución del Φ_{qp} podría ser efecto de la fotoinhibición en los fotosistemas debido a intensidades de luz actínica crecientes. Esto podría explicarse ya que, si la energía absorbida excede la capacidad de disipación de los fotosistemas, entonces muy probablemente ocurra fotoinhibición tanto en el PSII como en el PSI (Quero et al., 2020). Si este es el caso, la planta debe recurrir a procesos de disipación térmica regulada, principalmente de rápida relajación como cambios conformacionales en el complejo antena y/o el ciclo de las xantófilas.

Por otro lado, los mayores valores de Φ_{PSII} se encontraron en hojas desarrolladas en el ambiente B1, para las tres intensidades de luz actínica (**Figura 12**). El ambiente B1 presentó un DPV de 2.18 kPa, que fue superior en comparación con el del resto de los ambientes (1.60-1.78 kPa) (**Tabla 1**). A mayor valor de DPV existe mayor demanda atmosférica de agua, lo que se traduce en una mayor transpiración y apertura estomática (Gilbert et al., 2011), con el consecuente mayor ingreso de CO_2 y posible aumento de la actividad fotosintética. Esto tiene lugar en presencia de luz y bajo condiciones hídricas óptimas, tal como fue llevado a cabo este experimento. Por lo tanto, el DPV estaría siendo el causante de que una hoja desarrollada en B1 haya presentado mayor cantidad de energía transferida a la fase fotoquímica.

Asimismo, la partición de la energía de hojas desarrolladas en B1 fue similar entre genotipos (**Figura 12** y **Figura 13**). Sin embargo, las estrategias de partición fueron diferentes

(Figura 14A y Figura 14E). En el caso de DM (Figura 14E), se puede ver que el rendimiento cuántico de los CR abiertos (Φ_{qp}) correlacionó positivamente con la disipación basal de fotosistemas inactivos ($\Phi_{NO_{basal}}$), infiriendo que el transporte de electrones a la fase fotoquímica depende de la composición estructural del fotosistema. Mientras que en GE (Figura 14A), la disipación térmica regulada ($\Phi_{NPQ_{fast}}$) estuvo acompañada de daño estructural del fotosistema ($\Phi_{NPQ_{slow}}$) ($R = 0.9$ entre $\Phi_{NPQ_{fast}}$ y $\Phi_{NPQ_{slow}}$), y el daño provocó menor rendimiento potencial (Φ_{qs}).

En términos generales, el Φ_{PSII} de hojas desarrolladas en el ambiente A fue mayor que el de hojas desarrolladas en el ambiente R para ambos genotipos en las tres intensidades de luz actínica (Figura 12, Tablas Suplementarias 1 y 2). A su vez, en las tres intensidades de luz actínica el Φ_{NPQ} de ambos genotipos fue menor en el ambiente A comparándolo con el ambiente R. Howegoning et al. (2010) y Miao et al. (2016), ambos en plantas de pepino, encontraron un mayor Φ_{PSII} en plantas crecidas en un ambiente azul, en comparación con plantas crecidas en un ambiente rojo con igual intensidad lumínica. Por otro lado, el Φ_{NO} fue mayor en plantas desarrolladas en el ambiente R en contraste con plantas desarrolladas en el ambiente A (Figura 12, Tablas Suplementarias 1 y 2). Este resultado es coherente con el de Miao et al. (2016), quienes encontraron lo mismo, y se lo atribuyen a que el mayor transporte de electrones en el PSII retrasa la clausura de los CRs, reduciendo el Φ_{NO} en plantas desarrolladas en un ambiente azul comparadas con plantas desarrolladas en rojos.

Analizando los parámetros de partición de hojas desarrolladas en el ambiente A, los genotipos presentaron diferente estrategia de partición de la energía (Figura 14D y Figura 14F). Cuando se analiza al genotipo GE (Figura 14D), se observó que el Φ_{qs} y el Φ_{qp} se correlacionaron positivamente con el $\Phi_{NO_{basal}}$, por lo que se puede inferir que tanto el rendimiento potencial del PSII como el grado de apertura de los CR dependen de la composición estructural. Asimismo, el $\Phi_{NPQ_{fast}}$ se correlacionó negativamente con el $\Phi_{NO_{basal}}$, indicando que cuando la energía no pudo ser disipada de manera basal, se debió recurrir a procesos de disipación regulada. Por otro lado, DM no presentó dichas correlaciones (Figura 14F), pero aun así presentó similar partición de la energía que GE en las tres intensidades de luz actínica. Por lo que ambos genotipos estarían obteniendo similares rendimientos cuánticos a través de diferentes estrategias en el manejo de la energía.

El genotipo DM presentó similar partición de la energía entre los ambientes B2 y A para las tres intensidades de luz actínica (Figura 12). Asimismo, Miao et al. (2016) encontraron que plantas de pepino desarrolladas en un ambiente azul presentaron similar actividad fotosintética que plantas desarrolladas en un ambiente blanco con igual intensidad lumínica. Sin embargo, esta situación no ocurrió para el genotipo GE (Figura 12). La estrategia de partición entre ambos genotipos fue diferente para los ambientes B2 y A (Figura 14). A su vez, la estrategia de partición también fue diferente entre ambientes para cada genotipo (Figura 14)



Cuando se observan las respuestas de hojas desarrolladas en un ambiente blanco enriquecido en longitudes de ondas rojas (B2), GE presentó mayor Φ_{NPQ} que DM en las tres intensidades de luz actínica (**Figura 12**). Esto también se visualiza en el PCA de la Figura 13B, donde GE queda ubicado en valores negativos del PC1, correlacionándose en mayor medida con los rendimientos cuánticos de procesos de disipación térmica no basal. Mientras que DM queda ubicado en valores positivos del PC1, con menor correlación con Φ_{NPQ} (**Figura 13B**).

Asimismo, analizando los procesos de disipación no constitutivos de GE en el ambiente B2 (**Figura 14B**), se observó que aumentos en los procesos de rápida relajación ($\Phi_{NPQfast}$) fueron acompañados de aumentos en daños estructurales del fotosistema ($\Phi_{NPQslow}$). Sumado a ello, los daños estructurales quedarían evidenciados mediante la correlación negativa ($R = -0.8$) del $\Phi_{NPQslow}$ y el $\Phi_{NObasal}$, haciendo referencia a que la energía que no puede ser disipada térmicamente de manera constitutiva genera daño estructural en el PSII. Por otro lado, DM no presentó dicha estrategia de partición (**Figura 9C**), pero sí presentó una correlación negativa entre $\Phi_{NPQfast}$ y el $\Phi_{NObasal}$ ($R = -0.8$), indicando que cuando la energía no pudo ser disipada basalmente se recurrió a procesos de disipación regulada. A raíz de esto, se infiere que las diferencias significativas tanto en el Φ_{PSII} como en el Φ_{NPQ} entre genotipos para el ambiente B2, se deben a diferencias en la estrategia de disipación de la energía. DM presenta un mayor Φ_{PSII} y menor Φ_{NPQ} debido a poder manejar más eficientemente los excedentes energéticos. Mientras que en GE los aumentos en intensidad de luz actínica provocarían daño estructural.

Finalmente, en el ambiente R, GE presentó mayor Φ_{NPQ} que DM en todas las intensidades de LA (**Figura 12**). Mientras que DM presentó mayor Φ_{NO} en las tres intensidades de LA (**Figura 12**), y mayor Φ_{PSII} en las intensidades de luz actínica baja y media, LA200 y LA400 (**Figura 12A** y **Figura 12B**). Dichas aseveraciones también se visualizan en el *biplo*t de la Figura 9C, donde GE queda ubicado junto al Φ_{NPQ} , correlacionando negativamente con el PC1. Mientras que DM se correlaciona positivamente con el PC1, donde el Φ_{NO} y el Φ_{PSII} también se correlacionan positivamente con el PC1 (**Figura 13C**).

Cuando se analizan las estrategias de partición en ambos genotipos para el ambiente R (**Figura 14C** y **Figura 14G**), se tiene que en ambos genotipos el rendimiento cuántico de CR abiertos (Φ_{qp}) disminuyó en conjunto con aumentos de los procesos de rápida relajación ($\Phi_{NPQfast}$). No obstante, DM presentó una correlación negativa entre Φ_{qs} y $\Phi_{NPQfast}$, indicando que cuando el rendimiento cuántico potencial del PSII disminuyó, la disipación regulada aumentó. A su vez, la disipación térmica constitutiva (Φ_{NO}) de DM fue mayor (**Figura 12**). De aquí se infiere que en el ambiente R la composición estructural podría jugar un rol importante en la diferente partición de la energía entre ambos genotipos, provocando que DM presente menor Φ_{NPQ} en las tres intensidades de excitación y mayor Φ_{PSII} en LA200 y LA400.

A partir de lo descrito anteriormente, se pudo establecer que existe una partición de la energía diferencial entre genotipos que a su vez depende del ambiente lumínico de desarrollo. Las diferencias significativas se encontraron en el ambiente R y en un ambiente blanco

enriquecido con longitudes de onda rojas (B2) (ver [Tabla 3](#)). A intensidades de luz actínica bajas (LA200), las diferencias en el Φ_{PSII} entre genotipos se notan en el ambiente R. Conforme aumenta la intensidad de luz de excitación, se vislumbran diferencias en el Φ_{PSII} del ambiente B2 (LA400 y LA850). Mientras que en la intensidad de luz actínica alta (LA850) desaparece la diferencia genotípica en el Φ_{PSII} del ambiente R. Asimismo, estas diferencias se deben a un diferente manejo de la energía excedente mediante los procesos disipativos regulados e inducidos por luz.

5. CONCLUSIONES

1. La intensidad lumínica de excitación afecta la partición de la energía en el PSII. Aumentos en ella conllevan aumentos en los procesos de disipación térmica no basal y disminuciones en el rendimiento cuántico del PSII.
2. El ambiente lumínico de desarrollo de una hoja funcional de *Glycine max* (L.) Merr. determina la partición de la energía en el PSII.
3. En hojas de *Glycine max* (L.) Merr. desarrolladas en ambientes lumínicos de diferente composición espectral pero igual potencia ($\sim 140 \text{ W m}^{-2}$), la energía destinada a la fase fotoquímica (Φ_{PSII}) es determinada en mayor medida por el grado de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}), y la energía disipada de forma no basal (Φ_{NPQ}) es determinada en mayor medida por la disipación de rápida relajación ($\Phi_{NPQfast}$).
4. La calidad espectral del ambiente lumínico de desarrollo determina la estrategia de partición de la energía de una hoja funcional de *Glycine max* (L.) Merr.
5. La estrategia de partición de la energía es diferente entre genotipos independientemente del ambiente lumínico de desarrollo.
6. Existe respuesta genotipo-diferencial en los parámetros de partición de energía de hojas desarrolladas en un ambiente rojo y en uno blanco enriquecido en rojo. El genotipo Don Mario 6.8i "Barraca Erro S.A." presenta mayor rendimiento cuántico del PSII y menor disipación térmica no basal.
7. Las diferencias genotípicas en los rendimientos cuánticos de la partición de la energía se deben a estrategias diferentes en el manejo de la energía, principalmente de la energía correspondiente a longitudes de ondas rojas.



6. PERSPECTIVAS

A corto plazo, realizar un perfil de la composición estructural de hojas desarrolladas en los distintos ambientes, de forma de contrastar los supuestos generados en la discusión. Es decir, estudiar si existen diferencias en la composición estructural pigmento-proteína entre genotipos y entre ambientes lumínicos de desarrollo. Por ejemplo, estudiar la composición de xantófilas, carotenoides y clorofilas. Además, resultaría oportuno estudiar cuáles mecanismos de fotoprotección actúan principalmente en cada genotipo, pues se observó que las diferencias genotípicas radican en el manejo eficiente de los excedentes energéticos.

A mediano plazo, es de utilidad repetir los ensayos con igualdad de condiciones ambientales y de protocolos actínicos, pero esta vez complementando con mediciones de la asimilación neta de carbono y cuantificación de producción de O_2 , y midiendo la conductancia estomática periódicamente. Con el análisis de asimilación de CO_2 se puede caracterizar la respuesta fotosintética frente al aumento de la concentración de CO_2 . Esto además permitiría establecer el grado de correlación entre la tasa de transferencia de electrones y la asimilación de CO_2 . Respecto a la medición de producción de O_2 , permitiría tener una aproximación de lo que ocurre en el complejo partidor de agua y así tener una visión más integral de la fotosíntesis. Por otro lado, las mediciones de conductancia estomática serían útiles para observar si es una fuente de variación a lo largo del experimento.

A largo plazo, encontrar qué genes se encuentran vinculados a las respuestas fotosintéticas de ambos genotipos en diferentes ambientes lumínicos, particularmente los vinculados a las estrategias de disipación de la energía. Esto podría ser útil para colaborar en la selección de genotipos que presenten un mejor manejo de la energía y así potenciar el rendimiento del cultivo sojero como de otros cultivos.

7. AGRADECIMIENTOS

En lo académico:

A los integrantes del Grupo Disciplinario Bioquímica y Fisiología Vegetal de Facultad de Agronomía, particularmente a los del Laboratorio de Fotobiología y del Laboratorio de Bioquímica por brindar el espacio para llevar adelante este trabajo.

Al Dr. Quero por orientar esta tesis, dar para adelante y potenciar mi desarrollo de la heurística. Además, me enseñó lo básico de soldadura con electrodo.

A Martita por ser una constante fuente de apoyo y enfatizar en la prolijidad del desarrollo de los ensayos.

A Noelia, quien realizó su tesis acoplada con la mía, por acompañar en el proceso brindado aliento y compañerismo.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) por brindar las semillas para que este experimento se lleve adelante.

En lo personal:

A mis familiares cercanos que siempre estuvieron, están y estarán brindando apoyo y motivación. Especialmente a mi vieja, que desde temprana edad cultivó el uso de mi memoria e intelecto, y a mi viejo, por no decir Dios.



8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abtew, W., & Melesse, A. (2013). Vapor pressure calculation methods. In *Evaporation and evapotranspiration* (pp. 53-62). Springer, Dordrecht.
2. Anderson, D. B. (1936). Relative humidity or vapor pressure deficit. *Ecology*, 17(2), 277-282.
3. Agrawal, S. B., Singh, S., & Agrawal, M. (2015). Role of Light in Plant Development. *International Journal of Plant and Environment*, 1(01), 43-56. <https://doi.org/10.18811/ijpen.v1i1.7113>
4. Azcón-Bieto, J. & Talón, M. (2013). *Fundamentos De Fisiología Vegetal*, (2.a ed.). McGraw Hill Education.
5. Baker, N. R., Long, S. P., & Ort, D. R. (1988, January). Photosynthesis and temperature, with particular reference to effects on quantum yield. In *Symposia of the Society for Experimental Biology* (Vol. 42, pp. 347-375)
6. Baker, N. R. (2008). Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 89-113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>
7. Baroli, I., Price, G. D., Badger, M. R., & von Caemmerer, S. (2008). The contribution of photosynthesis to the red light response of stomatal conductance. *Plant Physiology*, 146(2), 737-747. <https://doi.org/10.1104/pp.107.110924>
8. Benson, A. A. (2002). Following the path of carbon in photosynthesis: a personal story. *Photosynthesis Research*, 73(1/3), 29-49. <https://doi.org/10.1023/a:1020427619771>
9. Björn, L. O. (2010). *Photobiology: The Science of Life and Light* (2nd ed.). Springer.
10. Blankenship, R. E. (2014). *Molecular Mechanisms in Photosynthesis* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
11. Brodersen, C. R., & Vogelmann, T. C. (2010). Do changes in light direction affect absorption profiles in leaves? *Functional Plant Biology*, 37(5), 403. <https://doi.org/10.1071/fp09262>
12. Broughton, W. J., & Dilworth, M. J. (1971). Control of leghaemoglobin synthesis in snake beans. *Biochemical Journal*, 125(4). <https://doi.org/10.1042/bj125107>
13. Buchanan, B. B.; Gruissem, W.; Jones, R. L. 2015. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. 3rd. ed. Oxford, UK, John Wiley
14. Buschmann, C., Meier, D., Kleudgen, H. K., & Lichtenthaler, H. K. (1977). Regulation of chloroplast development by red and blue light. In *Annual European Symposium on Photomorphogenesis* (pp. 195-198). Pergamon.

15. Campbell, G. S., & Norman, J. (1998). *An Introduction to Environmental Biophysics* (2nd 1998 ed.). Springer.
16. Dai, S., Schwendtmayer, C., Johansson, K., Ramaswamy, S., Schu \$ Rmann, P., & Eklund, H. (2000). How does light regulate chloroplast enzymes? Structure-function studies of the ferredoxin/thioredoxin system. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 33, 67–108.
17. Derks, A., Schaven, K., & Bruce, D. (2015). Diverse mechanisms for photoprotection in photosynthesis. Dynamic regulation of photosystem II excitation in response to rapid environmental change. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1847(4-5), 468-485. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.02.008>
18. Devlin, P. F., Christie, J. M., & Terry, M. J. (2007). Many hands make light work. *Journal of Experimental Botany*, 58(12), 3071-3077. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm251>
19. DIEA presenta los resultados de la Encuesta Agrícola “Invierno 2021”. (2021). Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/diea-presenta-resultados-encuesta-agricola-invierno-2021>
20. Dongsansuk, A., Lütz, C., & Neuner, G. (2013). Effects of temperature and irradiance on quantum yield of PSII photochemistry and xanthophyll cycle in a tropical and a temperate species. *Photosynthetica*, 51(1), 13–21. <https://doi.org/10.1007/s11099-012-0070-2>
21. Estévez, R. (2016). Biomarcadores de luteína, zeaxantina y otros carotenoides en la relación dieta y salud ocular humana. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. <https://eprints.ucm.es/38583/2/T37552.pdf>
22. Fan, X. X., Zang, J., Xu, Z. G., Guo, S. R., Jiao, X. L., Liu, X. Y., & Gao, Y. (2013). Effects of different light quality on growth, chlorophyll concentration and chlorophyll biosynthesis precursors of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(9), 2721–2726. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1304-z>
23. Fehr, W.R., Caviness, C.F., Burmood, D.T., Pennington, J.S., (1971). Stage of Development Descriptions for Soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science*, 11: 929-931.
24. Genty, B., Briantais, J.-M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 990(1), 87-92. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(89)80016-9)
25. Gilbert, M. E., Holbrook, N. M., Zwieniecki, M. A., Sadok, W., & Sinclair, T. R. (2011). Field confirmation of genetic variation in soybean transpiration response to vapor pressure deficit and photosynthetic compensation. *Field Crops Research*, 124(1), 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.06.011>
26. Goltsev, V. N., Kalaji, H. M., Paunov, M. et al. (2016). Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(6), 869-893.



<https://doi.org/10.1134/s1021443716050058>

27. Hendrickson, L., Förster, B., Pogson, B. J., & Chow, W. S. (2005). A simple chlorophyll fluorescence parameter that correlates with the rate coefficient of photoinactivation of Photosystem II. *Photosynthesis Research*, 84(1-3), 43-49. <https://doi.org/10.1007/s11120-004-6430-4>
28. Hikosaka, K., Kato, M., Hirose, T. (2004). Photosynthetic rates and partitioning of absorbed light energy in photoinhibited leaves. *Physiologia Plantarum*. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2004.00364.x>
29. Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., van Ieperen, W., & Harbinson, J. (2010). Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany*, 61(11), 3107–3117. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq132>
30. Horton, P., & Ruban, A. (2005). Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: Photosynthesis and photoprotection. *Journal of Experimental Botany*, [56\(411\), 365–373](https://doi.org/10.1093/jxb/eri023). <https://doi.org/10.1093/jxb/eri023>
31. Izzo, L. G., Hay Mele, B., Vitale, L., Vitale, E., & Arena, C. (2020). The role of monochromatic red and blue light in tomato early photomorphogenesis and photosynthetic traits. *Environmental and Experimental Botany*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104195>
32. Johnson, M. P., & Wientjes, E. (2019). The relevance of dynamic thylakoid organisation to photosynthetic regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1861(4), 148039. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.06.011>
33. Kalaji, H. M., Schansker, G. et al. (2017). Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research*, 132(1), 13-66. <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0318-y>
34. Kasajima, I., Takahara, K. et al. (2009). Estimation of the Relative Sizes of Rate Constants for Chlorophyll De-excitation Processes Through Comparison of Inverse Fluorescence Intensities. *Plant and Cell Physiology*, 50(9), 1600-1616. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp102>
35. Kaiser, E., Ouzounis, T., Giday, H., Schipper, R., Heuvelink, E., & Marcelis, L. F. M. (2019). Adding Blue to Red Supplemental Light Increases Biomass and Yield of Greenhouse-Grown Tomatoes, but Only to an Optimum. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02002>
36. Kozai, T., Fujiwara, K., & Runkle, E. S. (Eds.). (2016). *LED Lighting for Urban Agriculture*. Springer, New York, 1. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-1848-0>
37. Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O., & Edwards, G. E. (2004). New Fluorescence Parameters for the Determination of QARedox State and Excitation Energy Fluxes. *Photosynthesis Research*, 79(2), 209-218. <https://doi.org/10.1023/b:pres.0000015391.99477.0d>

38. Landi, M., Zivcak, M., Sytar, O., Brestic, M., & Allakhverdiev, S. I. (2020). Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments: A review. In *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* (Vol. 1861, Issue 2). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.148131>
39. Lazár, D. š. (2015). Parameters of photosynthetic energy partitioning. *Journal of Plant Physiology*, 175, 131-147. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.10.021>
40. Lazár, D. š., Stirbet, A., Guo, Y., & Govindjee, G. (2019). Photosynthesis: basics, history and modelling. *Annals of Botany*, 126(4), 511-537. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz171>
41. Lê, S., Josse, J. & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*. 25(1). pp. 1-18.
42. Li, Y., Cai, X., Gu, W., & Wang, G. (2020). Transcriptome analysis of carotenoid biosynthesis in *Dunaliella salina* under red and blue light. *Journal of Oceanology and Limnology*, 38(1), 177–185. <https://doi.org/10.1007/s00343-019-9064-2>
43. Mackowiak, C. L., Ruffe, L. M., Yorio, N. C., Goins, G. D., Kagie, H. R., Wheeler, R. M., & Sager, J. C. (2001). Improving Spinach, Radish, and Lettuce Growth under Red Light-emitting Diodes (LEDs) with Blue Light Supplementation. In *HORTSCIENCE* (Vol. 36, Issue 2).
44. Matsuda, R., Ohashi-Kaneko, K., Fujiwara, K., Goto, E., & Kurata, K. (2004). Photosynthetic Characteristics of Rice Leaves Grown under Red Light with or without Supplemental Blue Light. In *Plant Cell Physiol* (Vol. 45, Issue 12). <https://academic.oup.com/pcp/article/45/12/1870/1827071>
45. Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence-a practical guide. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 51, Issue 345).
46. Miao, Y. xiu, Wang, X. zhuo, Gao, L. hong, Chen, Q. yun, & Qu, M. (2016). Blue light is more essential than red light for maintaining the activities of photosystem II and I and photosynthetic electron transport capacity in cucumber leaves. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(1), 87–100. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61202-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61202-3)
47. Monteith, J. L. (1977). Climate and the efficiency of crop production in Britain. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 281(980), 277-294.
48. Nelson, N., & Ben-Shem, A. (2004). The complex architecture of oxygenic photosynthesis. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 5, Issue 12, pp. 971–982). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrm1525>
49. Nicol, L., & Croce, R. (2021). The PsbS protein and low pH are necessary and sufficient to induce quenching in the light-harvesting complex of plants LHCI. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86975-9>
50. Nelson, N., & Junge, W. (2015). Structure and Energy Transfer in Photosystems of Oxygenic Photosynthesis. *Annual Review of Biochemistry*, 84(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-092914-041942>
51. Nobel, P. S. (2009). *Physicochemical and Environmental Plant Physiology* (4.a ed.). Academic Pr.



52. Pedersen, T. L. (2020) <https://tidygraph.data-imaginist.com>
53. Quero, G., Bonnacarrère, V., Fernández, S., Silva, P., Simondi, S., & Borsani, O. (2019). Light-use efficiency and energy partitioning in rice is cultivar dependent. *Photosynthesis Research*, 140(1), 51-63. <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0605-x>
54. Quero, G., Bonnacarrère, V., Borsani, O. et al. (2020). Genetic architecture of photosynthesis energy partitioning as revealed by a genome-wide association approach. *Photosynthesis Research*, 1. <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00721-2>
55. R Core Team (2017) R: a language and environment for statistical computing. The R Foundation. <https://www.R-project.org>
56. Ruban, A. v, Young, A. J., & Horton, P. (1993). Evidence for Changes in the State of the Light-Harvesting System of Photosystem II in Vivo. In *Plant Physiol* (Vol. 102). <https://academic.oup.com/plphys/article/102/3/741/6066969>
57. Russell L (2018) emmeans: estimated marginal means, aka leastsquares means. R package version 1.2.1. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>
58. Schmutz, J., Cannon, S. B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., ... Jackson, S. A. (2010). Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463(7278), 178-183. <https://doi.org/10.1038/nature08670>
59. Shablico, D. (2018). Actualización en Biología Molecular y Celular y su Enseñanza a Nivel Terciario, 133-151. Ed. GRUPO MAGRO EDITORES. ISBN en línea: 978-9974-8691-4-1.
60. Smith, H. L., McAusland, L., & Murchie, E. H. (2017). Don't ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes. *Journal of Experimental Botany*, 68(9), 2099-2110. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx098>
61. Sobko, O. et al., (2020). Environmental Effects on Soybean (*Glycine Max* (L.) Merr) Production in Central and South Germany. *Agronomy*, 10(12), 1847. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121847>
62. Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. 3th. ed. Sunderland, Sinauer Associates. 690 p.
63. Thomas, B. (2006). Light signals and flowering. In *Journal of experimental botany* (Vol. 57, Issue 13, pp. 3387–3393). <https://doi.org/10.1093/jxb/erl071>
64. Varmuza, K., & Filzmoser, P. (2009). *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics* (L. Taylor & Francis Group, Ed.).
65. Xu, Z., Ren, T., Marowa, P., You, X., Lu, X., Li, Y., & Zhang, C. (2020). Establishment of a cultivation mode of glycine soja, the bridge of phytoremediation and industrial utilization. *Agronomy*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10040595>
66. Ye, S., Shao, Q., Xu, M., Li, S., Wu, M., Tan, X., & Su, L. (2017). Effects of light quality on morphology, enzyme activities, and bioactive compound contents in *Anoectochilus roxburghii*. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00857>

67. Zavafer, A., Chow, W. S., & Cheah, M. H. (2015a). The action spectrum of Photosystem II photoinactivation in visible light. In *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (Vol. 152, pp. 247–260). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.08.007>
68. Zavafer, A., Cheah, M. H., Hillier, W., Chow, W. S., & Takahashi, S. (2015b). Photo-damage to the oxygen evolving complex of photosystem II by visible light. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep16363>
69. Zavafer, A. (2021). A theoretical framework of the hybrid mechanism of photosystem II photodamage. *Photosynthesis Research*, 149(1–2), 107–120. <https://doi.org/10.1007/s11120-021-00843-1>
70. Zivcak, M., Brestic, M., Kalaji, H. M., & Govindjee. (2014). Photosynthetic responses of sun and shade-grown barley leaves to high light: is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess of light? *Photosynthesis Research*, 119(3), 339–354. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-9969-8>

ANEXOS

Composición del medio B y D

Solución A

- CaCl₂11.1g

Solución B

- KH₂PO₄.....6.8g

Solución C

- Fe-citrato.....0.24g

Solución D

- MgSO₄.7H₂O6.17g
- K₂SO₄4.35g
- MnSO₄. H₂O0.017g
- H₂BO₄0.0124g
- ZnSO₄.7 H₂O0.0144g
- CuSO₄.5 H₂O0.050g
- CoCl₄0.003g
- Na₂MoO₄.2 H₂O 0.0024g
-

Para 1Lt. de medio ByD se utilizó 500µL de cada solución, suplementándose con 0.1 mL de KNO₃ 5mM.



Tabla Suplementaria 1 Rendimientos cuánticos de los dos genotipos en función de los cuatro ambientes lumínicos (Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules) para la intensidad de luz actínica de $200 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$

	Blanco1		Blanco2		Rojos		Azules	
	GE	DM	GE	DM	GE	DM	GE	DM
Φ_{PSII}	0.74a	0.74a	0.54a	0.56a	0.41a	0.56b	0.63a	0.59a
Φ_{NPQ}	0.04a	0.04a	0.19b	0.14a	0.28b	0.08a	0.10a	0.13a
Φ_{NO}	0.22a	0.22a	0.27a	0.30a	0.30a	0.36b	0.27a	0.28a

GE: genotipo Génesis 5601. **DM:** genotipo Don Mario 6.8i. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, y Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación no-fotoquímica y no regulada. Letras diferentes significan diferencias significativas testeados mediante análisis de contrastes entre genotipos por ambiente lumínico ($P < 0.05$).

Tabla Suplementaria 2 Rendimientos cuánticos de los dos genotipos en función de los cuatro ambientes lumínicos (Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules) para la intensidad de luz actínica de $400 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$

	Blanco1		Blanco2		Rojos		Azules	
	GE	DM	GE	DM	GE	DM	GE	DM
Φ_{PSII}	0.60a	0.65a	0.34a	0.46a	0.27a	0.36b	0.45a	0.46a
Φ_{NPQ}	0.22a	0.18a	0.42b	0.27a	0.47b	0.31a	0.29a	0.29a
Φ_{NO}	0.18a	0.16a	0.25a	0.26a	0.26a	0.33b	0.26a	0.26a

GE: genotipo Génesis 5601. **DM:** genotipo Don Mario 6.8i. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, y Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación no-fotoquímica y no regulada. Letras diferentes significan diferencias significativas testeados mediante análisis de contrastes entre genotipos por ambiente lumínico ($P < 0.05$).

Tabla Suplementaria 3 Rendimientos cuánticos de los dos genotipos en función de los cuatro ambientes lumínicos (Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules) para la intensidad de luz actínica de $850 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$

	Blanco1		Blanco2		Rojos		Azules	
	GE	DM	GE	DM	GE	DM	GE	DM
Φ_{PSII}	0.44a	0.42a	0.24a	0.31b	0.18a	0.20b	0.31a	0.31a
Φ_{NPQ}	0.40a	0.42a	0.54b	0.45a	0.54b	0.49a	0.46a	0.45a
Φ_{NO}	0.16a	0.16a	0.22a	0.24a	0.29a	0.32b	0.23a	0.24a

GE: genotipo Génesis 5601. **DM:** genotipo Don Mario 6.8i. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, y Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación no-fotoquímica y no regulada. Letras diferentes significan diferencias significativas testeados mediante análisis de contrastes entre genotipos por ambiente lumínico ($P < 0.05$).

Tabla Suplementaria 4 Correlaciones entre parámetros de partición de energía en el PSII del genotipo Génesis 5601 en función de los cuatro ambientes lumínicos.

		Blanco1	Blanco2	Rojos	Azules
Φ_{qp}	Φ_{qs}	0.75	0.81	0.60	0.97
	Φ_{NPQf}	-0.91	-0.92	-0.81	-0.98
	Φ_{NPQs}	-0.71	-0.71	-0.64	-0.55
	Φ_{NOpsII}	-0.08	-0.06	-0.31	-0.15
	Φ_{NObas}	0.31	0.29	-0.13	0.84
Φ_{qs}	Φ_{NPQf}	-0.90	-0.93	-0.70	-0.99
	Φ_{NPQs}	-0.91	-0.67	-0.58	-0.49
	Φ_{NOpsII}	0.34	0.31	0.26	-0.01
	Φ_{NObas}	0.28	0.24	-0.60	0.77
Φ_{NPQf}	Φ_{NPQs}	0.91	0.80	0.55	0.53
	Φ_{NOpsII}	-0.33	-0.29	-0.19	0.04
	Φ_{NObas}	-0.55	-0.46	-0.02	-0.84
Φ_{NPQs}	Φ_{NOpsII}	-0.55	0.53	-0.26	-0.35
	Φ_{NObas}	-0.67	-0.79	-0.07	-0.83
Φ_{NOpsII}	Φ_{NObas}	0.71	0.72	0.18	0.14

Φ_{qp} es el rendimiento cuántico de los centros de reacción abiertos, Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos, Φ_{NPQf} es el $\Phi_{NPQfast}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de rápida relajación, Φ_{NPQs} es el $\Phi_{NPQslow}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de lenta relajación, Φ_{NOpsII} es la disipación térmica basal de PSII activados y el Φ_{NObas} es el $\Phi_{NObasal}$ y refiere a la disipación térmica basal producto de PSII inactivados.



Tabla Suplementaria 5 Correlaciones entre parámetros de partición de energía en el PSII del genotipo Don Mario 6.8i en función de los cuatro ambientes lumínicos.

		Blanco1	Blanco2	Rojos	Azules
Φ_{qp}	Φ_{qs}	0.59	0.19	0.74	0.86
	Φ_{NPQf}	-0.95	-0.81	-0.93	-0.92
	Φ_{NPQs}	-0.45	-0.66	-0.73	-0.39
	Φ_{NOpsII}	-0.15	-0.41	-0.10	-0.09
	Φ_{NObas}	0.80	0.72	0.51	0.20
Φ_{qs}	Φ_{NPQf}	-0.79	-0.57	-0.83	-0.95
	Φ_{NPQs}	-0.37	-0.30	-0.65	-0.49
	Φ_{NOpsII}	0.60	0.48	0.27	0.28
	Φ_{NObas}	0.30	0.05	0.02	0.23
Φ_{NPQf}	Φ_{NPQs}	0.40	0.59	0.63	0.59
	Φ_{NOpsII}	-0.18	-0.18	-0.16	-0.29
	Φ_{NObas}	-0.74	-0.79	-0.50	-0.42
Φ_{NPQs}	Φ_{NOpsII}	0.20	0.01	-0.26	-0.63
	Φ_{NObas}	-0.50	-0.61	-0.40	-0.84
Φ_{NOpsII}	Φ_{NObas}	-0.20	0.13	0.22	0.72

Φ_{qp} es el rendimiento cuántico de los centros de reacción abiertos, Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos, Φ_{NPQf} es el $\Phi_{NPQfast}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de rápida relajación, Φ_{NPQs} es el $\Phi_{NPQslow}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de lenta relajación, Φ_{NOpsII} es la disipación térmica basal de PSII activados y el Φ_{NObas} es el $\Phi_{NObasal}$ y refiere a la disipación térmica basal producto de PSII inactivados.

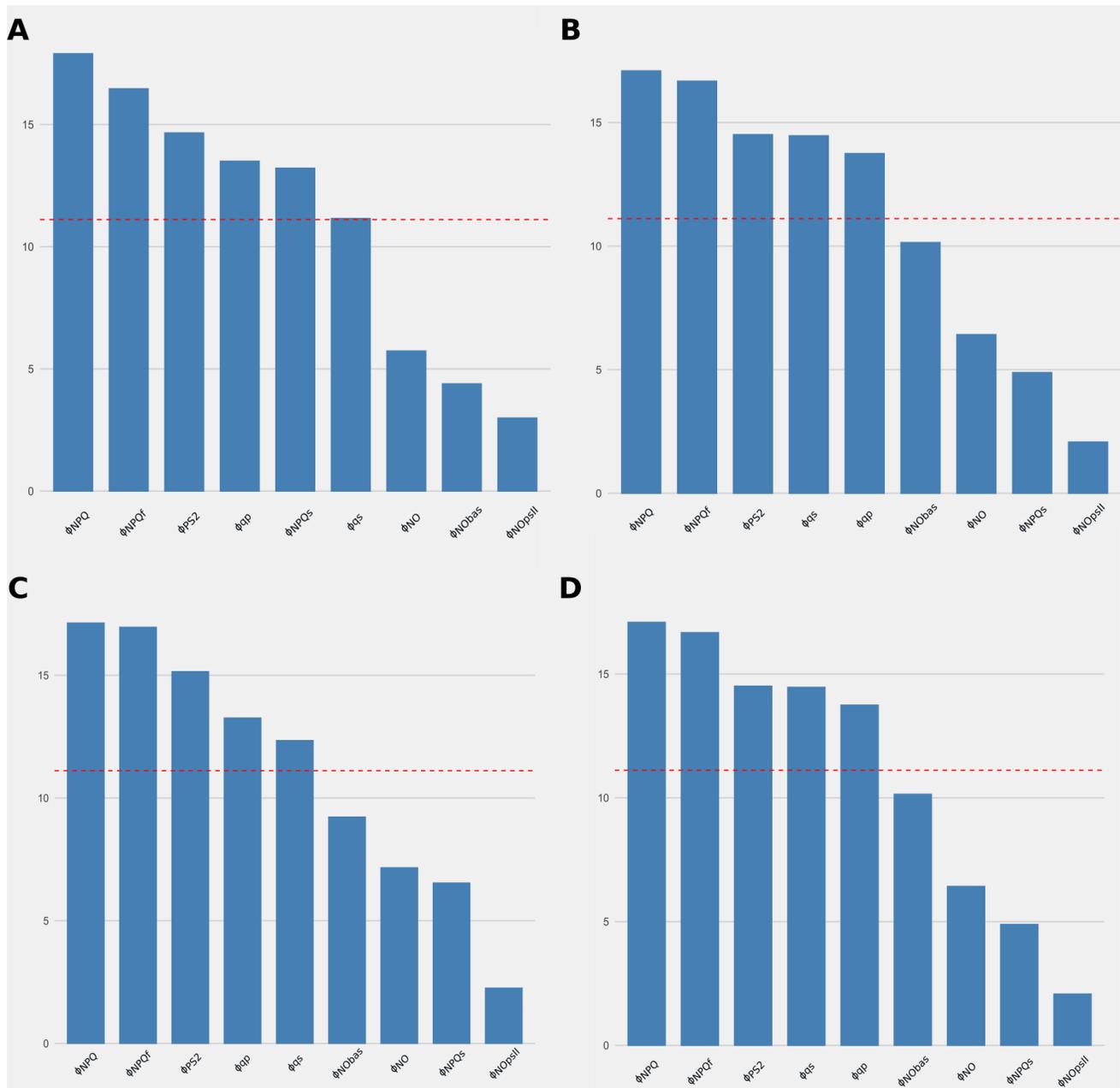


Figura Suplementaria 1 Contribución de cada parámetro de rendimiento cuántico a la generación del primer componente principal en función de los cuatro ambientes lumínicos de desarrollo. **A, B, C y D** representan a los ambientes Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules respectivamente. **Línea roja punteada** refiere a la contribución teórica si la contribución de los parámetros fuese uniforme. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{qp} es el rendimiento cuántico debido a la porción de CR abiertos, Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, Φ_{NPQf} es el $\Phi_{NPQfast}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de rápida relajación, Φ_{NPQs} es el $\Phi_{NPQslow}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de lenta relajación, Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación no-fotoquímica y no regulada, Φ_{NOpsII} es la disipación térmica basal de PSII activados y el Φ_{NObas} es el $\Phi_{NObasal}$ y refiere a la disipación térmica basal producto de PSII inactivados. El porcentaje de aporte de cada componente principal sobre la varianza total está representado sobre cada eje. En el eje de abscisas está el de primer componente principal, y en el eje de ordenadas el del segundo componente principal.

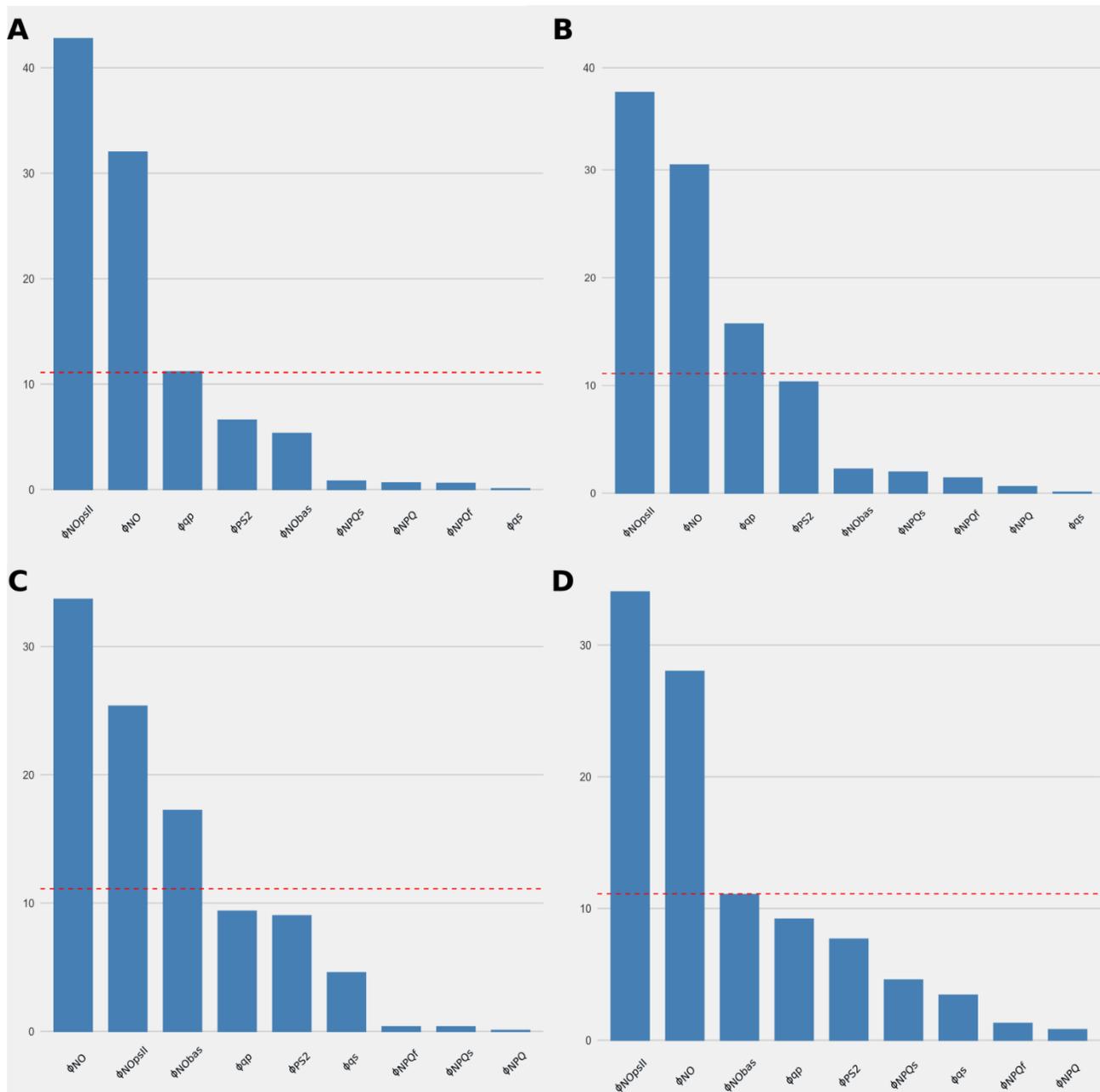


Figura Suplementaria 2 Contribución de cada parámetro de rendimiento cuántico a la generación del segundo componente principal en función de los cuatro ambientes lumínicos de desarrollo. **A, B, C y D** representan a los ambientes Blanco1, Blanco2, Rojos y Azules respectivamente. **Línea roja punteada** refiere a la contribución teórica si la contribución de los parámetros fuese uniforme. Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII, Φ_{qp} es el rendimiento cuántico debido a la porción de CR abiertos, Φ_{qs} es el rendimiento cuántico máximo del PSII si todos los centros de reacción estuvieran abiertos, Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal, Φ_{NPQf} es el $\Phi_{NPQfast}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de rápida relajación, Φ_{NPQs} es el $\Phi_{NPQslow}$ y refiere al rendimiento cuántico del *quenching* no-fotoquímico no basal de lenta relajación, Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de procesos constitutivos de disipación no-fotoquímica y no regulada, Φ_{NOpsII} es la disipación térmica basal de PSII activados y el Φ_{NObas} es el $\Phi_{NObasal}$ y refiere a la disipación térmica basal producto de PSII inactivados. El porcentaje de aporte de cada componente principal sobre la varianza total está representado sobre cada eje. En el eje de abscisas está el de primer componente principal, y en el eje de ordenadas el del segundo componente principal.