

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA AL ANEGAMIENTO DURANTE  
MACOLLAJE EN CEBADA Y SU POSTERIOR RECUPERACIÓN

por

Federico GARRA BORDINO

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

MONTEVIDEO

URUGUAY

2019

Tesis aprobada por:

Director:

---

Lic. MSc. Gastón Quero

---

Ing. Agr. MSc. Luis Viega

---

Lic. Nicolás Mastandrea

Fecha: 18 de octubre de 2019

Autor:

---

Federico Garra Bordino

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece por la presente tesis al grupo responsable de la cátedra de fisiología vegetal, a amigos de la facultad que colaboraron con materiales y/o apoyos varios y a mi madre María del Carmen Bordino Morganti y otros familiares sin quienes esto no pudiese haber sido posible.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES .....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	2
2.1. EFECTO DEL ANEGAMIENTO EN DIFERENTES MOMENTOS DEL CICLO.....	4
2.2. EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE LA PARTE AÉREA.....	5
2.2.1. <u>Efecto del anegamiento sobre el macollaje</u> .....	5
2.2.2. <u>Efecto del anegamiento sobre la biomasa</u> .....	5
2.2.3. <u>Efecto del anegamiento sobre la conductancia</u> .....	6
2.2.4. <u>Efecto del anegamiento sobre la fotosíntesis</u> .....	7
2.2.5. <u>Efecto del anegamiento sobre la concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en hoja</u> .....	8
2.2.6. <u>Efecto del anegamiento sobre la concentración de carbohidratos                 solubles en hoja</u> .....	9
2.3. EFECTOS SOBRE LA RAÍZ.....	10
2.3.1. <u>Generación de raíces adventicias</u> .....	10
2.3.2. <u>Cese en el crecimiento de raíces y muerte de las mismas durante el                 anegamiento</u> .....	11
2.3.3. <u>Generación de aerénquima durante el anegamiento</u> .....	12
2.3.4. <u>Respiración radicular en anegamiento</u> .....	12
2.3.5. <u>Efecto del anegamiento sobre la concentración de NO<sub>3</sub> radicular</u> .....	14
2.4. RECUPERACIÓN POST-RETIRADO EL ANEGAMIENTO.....	15

3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	17
3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ENSAYO Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
3.2. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES EVALUADAS.....	19
3.2.1. <u>Biomasa de raíz y parte aérea</u> .....	19
3.2.2. <u>Concentración y cantidad de nitratos en raíz y parte aérea</u> .....	19
3.2.3. <u>Concentración de carbohidratos totales solubles en parte aérea y raíz</u> .....	20
3.2.4. <u>Emisión de fluorescencia de clorofila</u> .....	20
3.2.5. <u>Conductancia estomática</u> .....	21
3.2.6. <u>Aerénquima</u> .....	21
3.2.7. <u>Generación de raíces adventicias a fin de estrés</u> .....	21
3.2.8. <u>Macollaje y nudos</u> .....	21
4. <u>RESULTADOS</u> .....	23
4.1. PARÁMETROS MORFOLÓGICOS.....	23
4.1.1. <u>Biomasa de raíz y parte aérea para todas las fechas de cosecha</u> .....	23
4.1.2. <u>Efecto del anegamiento sobre la partición de biomasa parte aérea / raíz</u> ....	24
4.1.3. <u>Efecto del anegamiento sobre la generación de aerénquima en la raíz</u> .....	25
4.1.4. <u>Efecto del anegamiento sobre el macollaje y fertilidad de los tallos</u> .....	28
4.1.5. <u>Efecto sobre el conteo de nudos a fin de estrés</u> .....	29
4.2. EFECTOS SOBRE VARIABLES FISIOLÓGICAS.....	30
4.2.1. <u>Estudio de la fluorescencia</u> .....	30
4.2.2. <u>Efecto del anegamiento y posterior recuperación sobre la conductancia                 estomática</u> .....	32
4.2.3. <u>Medición de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en parte aérea y raíz para los momentos pre inicio de                 estrés y fin de estrés</u> .....	35
4.2.4. <u>Medición de carbohidratos en parte aérea y raíz momentos pre inicio de                 estrés y fin de estrés</u> .....	37

5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	38
6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	41
7. <u>RESUMEN</u> .....	42
8. <u>SUMMARY</u> .....	43
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	44

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1	
1	Peso seco parte área y raíz promedio por cultivar y tratamiento para las tres cosechas (pre estrés, fin de estrés y fin de recuperación, respectivamente cosechas 1, 2 y 3).....23

### Figura No.

1.	Línea temporal del ensayo y de los momentos de mediciones .....18
2.	Relación parte aérea/ raíz promedio al finalizar el periodo de estrés.....25
3.	Anatomía de raíz al inicio del período de estrés, para ambos genotipos.....26
4.	Anatomía de raíz post estrés ambos genotipos.....27
5.	Número promedio de macollos por planta a fin del período de estrés y al final del período de recuperación.....28
6.	Número de nudos promedio por tallo a fin del periodo de estrés.....29
7.	Conductancia estomatica promedio durante y posterior al estrés.....33
8.	Relación 1:1 entre las mediciones promedio de conductancia estomática entre el valor del tratamiento control y el tratamiento anegado, durante el periodo estrés y durante la posterior recuperación.....34
9.	Concentración de nitratos al finalizar el estrés en parte aérea y raíz para ambos genotipos .....36

## 1. INTRODUCCIÓN

La incorporación de nuevos territorios a la superficie agrícola ha llevado a incorporar suelos marginales con limitantes para el crecimiento vegetal como problemas de infiltración y escasa profundidad, los cuales suelen anegarse ante fuertes precipitaciones (Greenway y Gibbs, 2003). Por otra parte, si se consideran los suelos ya incorporados casi dos décadas atrás a la agricultura (con drenaje moderado) observaciones de Hoffman (2001) indican que entre 30 a 50 días de suelo mojado para los suelos del Uruguay ya es probable llegar a grados de hipoxia.

Existen antecedentes referentes a cultivos de invierno como la cebada que indican que tienen una respuesta diferencial según la etapa ontogénica y la duración en que se imponga el anegamiento (San Celedonio, 2015).

El objetivo de la tesis fue caracterizar la respuesta al anegamiento durante macollaje en dos variedades de cebada (*Hordeum vulgare* L.). Para alcanzar el objetivo propuesto se evaluaron dos genotipos de cebada en una fecha de siembra. El anegamiento se impuso durante la etapa de macollaje. Las variables morfológicas y fisiológicas fueron medidas durante el periodo de anegamiento y durante la recuperación posterior.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Según García y Kaplan, Durán y Kaplán, citados por Hoffman (2001) es esperable observar situaciones de hipoxia en gran parte de los suelos del litoral agrícola uruguayo cuando ocurren lluvias excesivas, consecuencia de que parte de dichos suelos presentan capacidades de aire en el perfil inferiores a las capacidades críticas y menores conductividades de agua en el horizonte respecto a las deseadas. Por lo mencionado es importante comprender y caracterizar las variedades en este sentido, ya que el anegamiento es una limitante para el rendimiento de los cultivos a nivel mundial (Ashraf y Rehman, 1999).

Por otro lado, cobra relevancia caracterizar las variedades en su respuesta posterior al estrés por anegamiento una vez restaurada la presencia de oxígeno en el suelo, ya que algunas variedades de cebada han mostrado retener buenos rendimientos durante la recuperación (Hoffman y Viega, 2011).

Un suelo se considera anegado cuando el agua en exceso desplaza el aire contenido en el perfil (Hillel 1998, Striker 2012) o cuando la fracción de agua disponible supera en un 20% la capacidad de campo (Aggarwal et al., 2006). En suelos anegados el escaso oxígeno disponible es consumido rápidamente (Kreuzwiese et al. 2002, Malik et al. 2003) por lo que las plantas que crecen en estas condiciones sufren estados de hipoxia o anoxia a nivel radicular (Samad et al., 2001).

La falta del intercambio gaseoso entre el suelo y la planta, debido al aumento de la resistencia de los gases en solución acuosa, lleva a una rápida disminución del O<sub>2</sub> en la rizosfera. Además, en suelos anegados se incrementan los niveles de CO<sub>2</sub>, etileno y de sustancias tales como metano, sulfuros, acetaldehído y compuestos cianogénicos los cuales presentan diferentes grados de toxicidad en planta (Pardos, 2004).

Cuando las condiciones antes mencionadas persisten durante varios días la disponibilidad y absorción de nutrientes se reduce sustancialmente. Esto se debe a una pérdida de la funcionalidad de la raíz y a una reducción de la transpiración (Pardos, 2004). Algunos autores, consideran que la caída del flujo xilemático se debe a que no hay absorción pasiva, debido al cierre estomático. Tampoco hay absorción activa de nutrientes en el cortex radicular consecuencia de la falta de O<sub>2</sub> (Kozłowski 1984, Pardos 2004). La ausencia de movimiento de agua vía xilema lleva a un marchitamiento de las hojas y una senescencia precoz.

En los cereales hay una amplia gama de repuestas al anegamiento. Esto se puede observar tanto en cultivos de invierno (trigo, cebada y avena) como en cultivos de verano maíz. Por otra parte, cultivos como avena y cebada muestran una mayor susceptibilidad al anegamiento respecto al resto de los cereales de invierno como el trigo. Se ha observado que estos cultivos disminuyen sus rendimientos en condiciones de

anoxia (Setter y Waters 2003, Hoffman y Viega 2011). En este sentido, trigo y maíz son considerados cultivos tolerantes, ya que, si bien ven afectados sus rendimientos por largos periodos de inundación, retienen mayores rendimientos en relación a cebada (Ritter y Beer 1969, Hoffman y Viega 2011).

A pesar de la diferencia en los niveles de rendimiento antes mencionados, se ha observado que la mayoría de los cereales presentan mecanismos similares de tolerancia al anegamiento, apreciándose tanto ajustes morfológicos al estrés como ajustes fisiológicos (Justin y Armstrong 1987, Zaidi et al. 2003, Kato-Noguchi y Morokuma 2007).

Las diferencias en el nivel de dichas respuestas adaptativas serán las que explican mayormente la variabilidad adaptativa entre las especies mencionadas frente a la anoxia. Los cultivos de invierno (trigo, cebada y avena) serán aquellos que presentarán mayor probabilidad de pasar por dicho estrés debido a la baja demanda atmosférica, en la época de siembra y etapa vegetativa de los cultivos.

En este sentido la cebada se muestra más susceptible al estrés por anegamiento en términos generales respecto a otros cereales de invierno y verano, esto es consecuencia de distintos factores relacionados a la tolerancia y/o adaptación a dicho estrés. Dichos mecanismos adaptativos son varios, pudiendo ser 1) presentar un menor grado de aerénquima y/o aparición de modo más retrasado durante el estrés, 2) grado de suberización de la raíz para evitar la pérdida de  $O_2$  desde estas a la solución del suelo anegado, 3) grado y/o retraso en la generación en raíces adventicias, 4) grado de fermentación etanólica en comparación a láctica en las puntas de las raíces y/o retraso en la expresión de la misma durante el estrés, 5) menor capacidad de amortizar el pH citoplasmático mediante la incorporación de los  $H^+$  libres a precursores del ciclo de Krebs y 6) capacidad de evitar daños en las membranas por formas reactivas del oxígeno durante el estrés (Justin y Armstrong 1987, Colmer et al. 1998, Seago et al. 2005, Jiang et al. 2010).

Si bien como se menciona en el párrafo anterior, la cebada es un cultivo considerado sensible a las condiciones de anegamiento, se ha observado una importante variabilidad genética en lo que a tolerancia al anegamiento se refiere (Hoffman y Viega, 2011a).

A nivel local, el cultivar Arrayán es considerado tolerante ya que ha mantenido en varios tratamientos con anegamiento rendimientos semejantes a trigo inundado (especie tolerante) y opuestamente al cultivar Carumbé es caracterizado como susceptible (Hoffman y Viega, 2011a).

## 2.1. EFECTO DEL ANEGAMIENTO EN DIFERENTES MOMENTOS DEL CICLO

En cebada, las mayores pérdidas en producción de biomasa o rendimiento debido al anegamiento, se producen cuando los fenómenos de estrés ocurren durante el periodo crítico 20 días pre-floración y 10 días post-floración (Hoffman y Viega, 2011) o 30 días antes de 50% espigazón hasta los 10 días posteriores (Miralles et al., 2014). Este período abarca desde pre-floración hasta antesis. Siendo en antesis donde el anegamiento tiene mayor efecto negativo sobre los niveles de rendimiento (San Celedonio, 2015).

En este sentido, la reducción en biomasa se asocia a una disminución en el peso de los macollos y no a una menor biomasa en el tallo principal (San Celedonio, 2015). La pérdida en el rendimiento se debe a un menor número de granos, que, en el caso de la cebada, se asocia en mayor medida con un menor número de espigas por planta (Cannell et al. 1984, Collaku y Harrison 2002).

Según San Celedonio et al. (2011) las pérdidas en biomasa (tanto parte aérea como raíz) son mayores en la medida que los eventos de anegamiento se dan en etapas tempranas del desarrollo. Sin embargo, si los eventos de estrés son de una duración relativamente corta (15-20 días), la ocurrencia en momentos tempranos permite al cultivo recuperarse y alcanzar niveles normales de biomasa aérea y rendimiento.

Por otra parte, la capacidad de recuperación post anegamiento se va perdiendo gradualmente en la medida que estos eventos se producen en etapas más avanzadas del desarrollo. Por ejemplo, en el caso de la cebada si los eventos de anegamiento ocurren durante la emergencia temprana (pre-macollaje) o durante macollaje es esperable observar mayores niveles de recuperación, en comparación a si estos eventos ocurren con posterioridad a la etapa de encañado (San Celedonio, 2015). En etapas de desarrollo más avanzadas (Z40 – antesis en escala Zadock) no se observa una recuperación de la biomasa aérea, una vez retirado el anegamiento (San Celedonio, 2015).

Como se mencionó anteriormente, la biomasa radicular también se ve afectada en mayor medida si los eventos de estrés ocurren tempranamente en el ciclo. Sin embargo, la raíz muestra un mayor nivel de daño respecto a lo observado en parte aérea. Este efecto puede deberse a que la raíz se afecta antes durante el estrés, debido a que se encuentra de manera directa en condiciones de hipoxia y/o anoxia, y a que sobre el sistema radicular existe un efecto combinado de disminución de la biomasa (hasta 90% medida en cebada) y reducción del largo de raíces San Celedonio (2015).

## 2.2. EFECTOS DEL ANEGAMIENTO SOBRE LA PARTE AÉREA

### 2.2.1. Efecto del anegamiento sobre el macollaje

En general la dinámica de macollaje sigue un patrón de cuatro fases: 1) aparición de macollos, 2) mantenimiento del máximo número de macollos (Z 3.3 donde se define el potencial de rendimiento, 3) mortandad de macollos y 4) definición de los macollos fértiles. Bajo condiciones óptimas para el cultivo, el primer macollo generalmente aparece cuando el cultivo presenta tres hojas en el vástago principal. A partir de este momento la tasa de aparición de macollos, así como la duración de la etapa de macollaje determinan el número máximo de macollos (Alzueta et al., 2012). Una vez alcanzada la máxima capacidad de macollaje, el número final de macollos queda definido por su tasa de mortalidad hasta terminada la antesis (Kirby y Riggs 1978, Hay y Kirby 1991, Ishag et al. 1998, Hoffman et al. 2001, Alzueta et al. 2012).

En este sentido, se ha observado que, en cebada, el anegamiento genera un alargamiento del ciclo a antesis (Z49), como también reducciones en la tasa de aparición de macollos (San Celedonio, 2015). Estos efectos se ven incrementados si los eventos de estrés suceden en estados tempranos del desarrollo. De modo que, si bien el anegamiento reduce la tasa de aparición de macollos como consecuencia del estrés, se puede hablar de un efecto compensatorio a través de una mayor duración del periodo de aparición de los mismos (San Celedonio, 2015). En este sentido Trought y Drew (1980) observaron que por 48 horas de anegamiento durante el inicio del macollaje en plantas de trigo resultaron tener una emergencia de macollos más tardía respecto a sus controles no anegados (3,2 vs. 6,8 macollos/planta, respectivamente). Por otro lado, evaluando el efecto que tiene dicho estrés sobre la fertilidad de macollos Cannell et al. (1984), Collaku y Harrison (2002), estudiaron el efecto del anegamiento en cebada observando claras reducciones en el número de macollos fértiles. Llegando en algunos ensayos con cebada reducciones de entre 60 a 80% en el número de macollos establecidos por planta después de dos semanas de anegamiento durante la etapa de macollaje (Pang et al., 2004).

### 2.2.2. Efecto del anegamiento sobre la biomasa aérea

Segun Limpinuntana y Greenway (1979) la planta de cebada luego de cinco días de anegamiento cuando el mismo se aplicó a partir de la aparición de su primera hoja, generó disminuciones severas del crecimiento de la raíz, mientras que para dicho momento el crecimiento de la parte aérea no se vio aun afectado. Sin embargo, mediciones posteriores a al sexto día de estrés mostraron una disminución del crecimiento de la parte aérea, posiblemente consecuencia a un desequilibrio entre la

parte aérea y la raíz.

Varios ensayos muestran que el anegamiento en etapas tempranas genera sobre la parte aérea reducciones del área foliar, como consecuencia de una pérdida en la cantidad de macollos establecidos, así como una reducción en el tamaño individual de las hojas (Malik et al. 2001, Pang et al. 2004), de modo que como consecuencia de la inundación sería esperable en cebada observar una menor capacidad del cultivo para interceptar la radiación incidente. Respaldo lo antes mencionado, San Celedonio (2015) observó que los cultivos de cebada anegados en pre encañado no alcanzan nunca el IAF crítico de interceptación de la radiación incidente (95% de interceptación de la radiación incidente).

Por otra parte, en lo que a funcionalidad de la parte aérea refiere, para todos los tratamientos anegados independientemente del momento de ocurrencia del estrés, es apreciada una reducción en la proporción de hoja verde, aumentos en la relación vainas/hojas y aumentos en la senescencia foliar, todas mediciones hechas al momento de finalizado el estrés (San Celedonio, 2015).

En lo que refiere a recuperación post inundación, se midió el efecto que genera el anegamiento en etapas tempranas del cultivo de cebada (pre macollaje y macollaje). San Celedonio (2015) observó una reducción del 68% a 74% en biomasa aérea por efecto del anegamiento durante la recuperación (20 días posteriores a la finalización del periodo de estrés). Esta diferencia se mantuvo hasta el periodo de antesis.

### 2.2.3. Efecto del anegamiento sobre la conductancia

El primer síntoma de daño sobre la parte aérea por anegamiento es el cierre estomático, el mismo reduce la absorción pasiva de agua vía xilema por flujo de masas, pero también posteriormente afectaría el anegamiento la absorción activa de nutrientes, por falta de O<sub>2</sub> en la raíz, bajo ATP en las células, en el marco de un balance energético negativo (Kozlowski 1984, Pardos 2004). Por lo tanto, el flujo de masas vía xilema se ve mayoritariamente reducido, generando como consecuencia, un descenso en la transpiración y el marchitamiento de las hojas y senescencia precoz de las mismas.

Por otra parte, existe una relación directa entre la conductancia estomática y la tasa fotosintética, es decir cuanto menor sea la conductancia se espera sea menor la tasa fotosintética (Taiz y Zieger, 2010).

Morales y Scaglioni (2017), midieron conductancia estomática a diferentes fechas de siembra en dos cultivares de cebada (Carumbé y Arrayán) y dos cultivares de trigo (Churínche y Nogal) imponiendo, el anegamiento durante el periodo de macollaje (Z22 - Z30). En los ensayos antes mencionados, si bien se observaron variaciones en

conductancia estomática durante todo el periodo de medición, no se pudo establecer un claro efecto del anegamiento sobre esta variable para ninguno de los genotipos evaluados en ninguna de las dos fechas.

#### 2.2.4. Efecto del anegamiento sobre la fotosíntesis

El estudio de la fotosíntesis se puede separar en 3 etapas: 1) fotofísica, la cual consiste en la resonancia entre las moléculas de clorofila y generación de energía que luego se utiliza en la partición de moléculas de  $H_2O$ , liberándose electrones; 2) fotoquímica, en esta segunda etapa se estudia, mediante la fluorescencia de clorofilas, la proporción de energía disipada en forma de calor (quenching no fotoquímico) y la proporción de la misma usada para fotoquímica. Sobre esta última, los electrones liberados al partir las moléculas de agua en el centro de reacción del fotosistema dos (PSII) siguen un gradiente de óxido-reducción hacia la cadena de transportadores en la membrana tilacoidal, siendo recibidos estos primeramente por la feofitina y plastoquinona A (Qa), para ser seguidamente cedidos o no a los subsiguientes transportadores. El presente estudio se hace específicamente desde el primer intermediario en el transporte de electrones (la feofitina) hacia el primer aceptor (la plastoquinona A). Como productos de la etapa fotoquímica se genera poder reductor (NADPH) por la óxido-reducción de los transportadores de la membrana y ATP utilizando la fuerza protón-motriz de la ATP-asa generada por la acidosis del lumen de los cloroplastos, ambos (NADPH y ATP) son precursores del ciclo de Calvin-Benson (tercera etapa en el estudio de la fotosíntesis), ahora el  $CO_2$  es fijado en pentosas, ingresado previamente al mesófilo de la hoja vía estomas durante la transpiración de la planta (Backer 2008, Taiz y Zieger 2010).

El estudio de la fluorescencia de clorofila permite entre otras cosas interpretar cuanto de la energía de excitación que llega al centro de reacción del PSII se utiliza para el transporte de electrones en la membrana tilacoidal. Esta técnica empleada estudia específicamente el traspaso de electrones desde la feofitina a la plastoquinona A. Sin embargo, también la medición de fluorescencia permite observar en qué medida la energía de los fotones es perdida en forma de calor. Sobre la disipación de la energía de los fotones como calor, es de relevancia ver si se trata de calor disipado de forma regulada o no regulada, pudiendo este último generar daños a membranas (Quero et al., 2018).

Morales y Scaglioni (2017), midieron la fase fotoquímica de la fotosíntesis a través de la fluorescencia de clorofila, estudiaron la eficiencia máxima ( $F_v/F_m$ ) y operativa del PSII ( $F_q'/F_m'$ ), midiendo las mismas a lo largo de todo el periodo de estrés. Respecto al significado fisiológico de las dos variables evaluadas por Morales y Scaglioni (2017),  $F_q'/F_m'$  estima la eficiencia con que una determinada densidad de

fotones fotosintéticamente activos es utilizada por PSII para reducir la plastoquinona A, por lo que provee información acerca del rendimiento cuántico del proceso fotoquímico, y además permite estimar el flujo lineal de electrones a través del PSII. Mientras que,  $F_v/F_m$  estima la capacidad del PSII ante una densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activos para reducir la plastoquinona A cuando la misma se halla totalmente oxidada “abierta” (hoja en oscuridad). Brinda información sobre el rendimiento cuántico máximo del PSII.

Tales autores solo pudieron concluir un efecto significativo del anegamiento en  $F_v/F_m$  para la fecha de siembra de julio en INIA Churrinche, variedad de trigo caracterizada como susceptible al anegamiento. En los cultivares de cebada, no se encontraron diferencias en este parámetro en esta fecha siembra.

Por otra parte, en los mismos ensayos Morales y Scaglioni (2017), observaron un efecto del anegamiento sobre  $F_q'/F_m'$  en la variedad Carumbé en los primeros días del anegamiento para la siembra de julio. Finalmente, los autores antes mencionados, concluyen que durante sus ensayos el anegamiento no tuvo un efecto negativo sobre la fase fotoquímica de la fotosíntesis.

Por otra parte, Zeng et al. (2013) evaluaron dos variedades de cebada contrastantes tanto para la tolerancia al anegamiento como para la tolerancia a la salinidad. Esta investigación tuvo como resultados que tanto el anegamiento como la salinidad y la combinación de ambos tratamientos causó una reducción masiva en el contenido de clorofila para ambas variedades, sin embargo, sobre las mediciones de  $F_v / F_m$  la reducción observada fue para el tratamiento anegado (y su versión conjunta con salinidad), no así para el tratamiento sólo sometido a salinidad.

#### 2.2.5. Efecto del anegamiento sobre la concentración de $\text{NO}_3^-$ en hoja

Es esperable según los antecedentes (Malik et al., 2001) que la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en hoja baje durante periodos de estrés por anoxia. Esto se debe a que, al no existir limitantes para la actividad de la nitrato reductasa en hoja, el nitrato es usado inicialmente pero no es traslocado a la parte aérea normalmente debido a que el anegamiento a la larga afecta la funcionalidad de la raíz (Malik et al. 2001, Hayashi et al. 2013). La tasa de translocación de nitrato desde la raíz a la hoja se ve reducida. Esta falta de reposición desde la raíz, hace que la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en hoja se reduzca en la medida que las condiciones de estrés se mantengan y/o se intensifique.

La reducción en la reposición del  $\text{NO}_3^-$  a nivel de hoja es consecuencia de la disminución del flujo de masa vía xilema y esto último a su vez es consecuencia del cierre estomático. Como resultado de lo antes mencionado se impide una adecuada reposición del  $\text{NO}_3^-$  hacia la parte aérea en la medida que este sea usado para la síntesis

de aminoácidos (Huang et al. 1995, Liao y Lin 2001, Alaoui-Sossé et al. 2005).

Sobre lo expresado, es esperable un retraso en la acumulación de  $\text{NO}_3^-$  en las hojas versus las raíces avanzado el estrés, sobre esto Alaoui-Sossé et al. (2005) expresan que la actividad de la nitrato reductasa en la raíz no solo se conserva durante periodos de inundación, sino que también se induce su actividad como mecanismo de tolerancia, posiblemente para aumentar la generación de proteínas.

Respaldando lo antes mencionado, Trought y Drew (1980) estudiando plántulas de trigo (en pre macollaje) encontraron que el contenido de nitrógeno en la parte aérea cuando el drenaje no es limitante aumenta desde 0,125  $\mu\text{moles}$  a 1,5  $\mu\text{moles}$  finalizado el octavo día (con  $\text{O}_2$  en la rizosfera), en cambio en condición de anegamiento dicha concentración aumentó muy levemente durante el mismo periodo, observándose un leve incremento de 0,125  $\mu\text{moles}$  a 0,180  $\mu\text{moles}$  finalizados ocho días de estrés. Los mismos autores evaluaron la concentración de nitrógeno en la parte aérea de plántulas de trigo con apenas dos días de anegamiento, observando ya un retraso en los  $\text{NO}_3^-$  acumulados en hojas correspondientes a plantas anegadas respecto a sus controles creciendo en suelos drenados (2014 y 2910  $\mu\text{moles g}^{-1}$  MS respectivamente). Finalmente, Trought y Drew (1980) en muestreos a los quince días de continuado el anegamiento contrastan una diferencia aún más acentuada (621 y 2016  $\mu\text{moles g}^{-1}$  MS anegado y control, respectivamente).

Asociado a lo previamente señalado, Liao y Lin (2001), Alaoui-Sossé et al. (2005) midieron el funcionamiento de la nitrato reductasa durante estrés por anoxia contrastando en dichos ensayos plantas tolerantes con susceptibles al anegamiento, dichos autores observaron que la actividad de esta enzima se reduce en plantas sensibles durante el estrés y aumenta en las tolerantes, tal diferencia se ha atribuido a diferencias en captación de nutrientes por parte de las raíces.

#### 2.2.6. Efecto del anegamiento sobre la concentración de carbohidratos solubles en hoja

En términos generales la concentración de carbohidratos solubles (CHOS) en parte aérea crece respecto al control en la medida que avanza el periodo de estrés por anoxia en la raíz. Y dicho incremento no se da a una tasa constante durante los días de inundación, observándose variaciones en la tasa de acumulación de carbohidratos solubles a lo largo de periodos de estrés por anegamiento (Limpinuntana y Greenway, 1979).

Limpinuntana y Greenway (1979) en sus ensayos observan como fue variando la concentración de CHOS a lo largo del periodo de estrés por anoxia en cebada. Tales investigadores vieron que la cantidad de carbohidratos en cebada aumentó en parte aérea y raíz de modo diferencial a lo largo del periodo de estrés. Constatando estos autores ya un incremento en la generación de CHOS después de 7 horas de inducida la anoxia en la

rizosfera. Respecto a la evolución de la tasa de acumulación de CHOS durante el estrés, la concentración de estos se hizo máxima al quinto día, llegando a superar de 2 a 10 veces las parcelas inundadas a los controles. Sin embargo, posteriormente tal incremento se enlenteció más allá del quinto día de mantenido el estrés, probablemente esto, relacionado a un enlentecimiento del crecimiento de la parte aérea. Este último retraso en la tasa de generación de CHOS visto por Limpinuntana y Greenway (1979), al quinto día de estrés, podría deberse al cierre estomático generado por la condición de anegamiento (Malik et al., 2001) lo que genera reducciones en la concentración de CO<sub>2</sub> en hoja, pudiendo esto afectar la tasa fotosintética (Malik et al. 2001, Yordanova y Popova 2001, Li et al. 2011).

## 2.3. EFECTOS SOBRE LA RAÍZ

### 2.3.1. Generación de raíces adventicias

Como respuesta al anegamiento se observa el crecimiento de raíces adventicias las cuales ventajosamente pueden alcanzar el oxígeno hallado más hacia la superficie, ya que en comparación al resto de las raíces el lugar donde se forman éstas en planta es en los nudos, a nivel de la base de los macollos en las gramíneas (Barlow 1994, Kovar y Kuchenbuch 1994). Sobre lo dicho Malik et al. (2003) cuantifican para el caso de *Triticum aestivum* el crecimiento de las raíces adventicias en anegamientos de 20 días de duración durante macollaje. En este trabajo se observó un incremento del 35 % en el crecimiento de raíces adventicias en tratamientos anegados versus controles, al fin del periodo estrés.

Las raíces adventicias cumplirían un rol clave durante la inundación debido a que el flujo de agua a través de las raíces suele verse afectado en condiciones de anegamiento por la falta de oxígeno y especies como la cebada no adaptadas a estas condiciones ven afectado el flujo de agua en cuestión de minutos a días por falta de O<sub>2</sub> en la rizosfera. Sobre lo previamente mencionado, durante la inundación la reducción en el flujo de agua se atribuye a una menor conductancia hídrica de la raíz, generada esta por la inhibición de la membrana citoplasmática y un mal funcionamiento de los canales de acuaporinas. Dichos mal funcionamientos a nivel tisular tienen por consecuencia que también pueden estar presentes productos finales de la fermentación, moléculas de señalización y modificarse el transporte de gases de manera irregular en planta (todas características asociadas a un incorrecto funcionamiento de la membrana citoplasmática). Lo antes dicho funcionaría a su vez como señal para la muerte de raíces de perpetuarse la anoxia en la rizósfera, pero también señalaría esto para la generación de raíces adventicias.

Sobre la señalización para la formación de raíces adventicias Visser et al.

(1996), mencionan que en las raíces inundadas el agua actúa de barrera impidiendo la salida del etileno al exterior, el cual desplazándose a los tallos por difusión (no con el flujo transpiratorio) estaría en este sentido también involucrado en la generación de las mismas, también el etileno junto con la acción de las auxinas se asocia a la hipertrofia a nivel de la región sumergida, determinando esto último un crecimiento en grosor de las raíces. Varios autores mencionan que el etileno y las auxinas participan en la formación de raíces aéreas adventicias siendo estas una respuesta al anegamiento cuando la deficiencia de O<sub>2</sub> causa muerte generalizada de raíces primarias, pasando a ser las mismas la principal fuente de absorción de nutrientes y agua durante el anegamiento (Etherington 1984, Harrington 1987, Moog y Janiesch 1990, Solaiman et al. 2007).

Por otro lado, la influencia de las raíces adventicias en la conductancia hidráulica de la raíz aún falta estudiarse con profundidad, sin embargo, se entiende que el desarrollo de raíces adventicias junto con la muerte de raíces, explicarían varias de las respuestas medidas en la conductancia hidráulica de la raíz durante el anegamiento (Everard y Drew, 1989).

### 2.3.2. Cese en el crecimiento de raíces y muerte de las mismas durante el anegamiento

Bajo saturación hídrica las puntas de las raíces suelen ser las primeras afectadas por la hipoxia-anoxia, ya que tienden a tener mayor tasa metabólica y son consecuentemente la parte más sensible de la raíz al descenso en el balance energético radicular. Como fue mencionado el menor ATP generado en anoxia a nivel de raíz es consecuencia directa de la deficiencia de O<sub>2</sub>, hecho que impide el catabolismo completo de hexosas. En síntesis, perpetuado el estrés se produce un cese del crecimiento radicular y el consecuente retraso en la extensión radicular (Drew, 1997). Simultáneamente, la presión de turgencia en las células de la corteza radicular disminuye en situaciones de hipoxia (Bramley et al., 2010). Esta falta de turgencia junto a una menor producción de ATP y la muerte de las raíces más finas, determinan el retraso del crecimiento del sistema radicular respecto al resto de la planta.

Acerca de la señalización referente a la muerte celular programada de las raíces finas (las que exploran más el suelo), primeramente, mientras aún no se llega en la rizosfera a un estado de anoxia total, en la raíz se promueve la síntesis de ACC y este a su vez pueda ser convertido en etileno en la raíz inundada mediante la enzima ACC-oxidasa. Pero posteriormente avanzada la saturación hídrica, al llegar la rizosfera a estado de anoxia, el ACC sintetizado en la raíz es exportado a la parte aérea, donde en presencia de O<sub>2</sub> pueda trabajar la ACC-oxidasa sintetizando etileno, hormona determinante en la muerte celular programada (Bray et al., 2000).

Anegamientos de entre 15 a 20 días en ensayos con cebada durante los periodos; 1) pre inicio macollaje, 2) macollaje a inicio encañado y 3) durante encañado, mostraron todos reducir la proporción de raíces muy finas y finas (<0,4 mm de

diámetro), las cuales son más extendidas en la rizosfera y consecuentemente exploran en mayor medida el suelo. En contrapartida aumentó dicho estrés, para los tres periodos descriptos la proporción de raíces medianas y gruesas (>0,4 mm de diámetro). De esta manera, el aporte de las raíces más gruesas a la exploración radicular total a fin de estrés fue más importante en los tratamientos anegados respecto de los controles, significando esto una menor extensión del sistema radicular a lo largo del suelo cuando se inunda la cebada en alguna de las tres etapas ontológicas mencionadas al inicio (San Celedonio, 2015).

Tal reducción en la exploración radicular bajo condiciones de campo podría determinar deficiencias nutritivas en planta, ya que son las raíces finas las más importantes en la colonización de la rizosfera y por consiguiente las responsables de explorar en mayor medida el suelo, dificultando lo mismo la absorción de nutrientes, principalmente para aquellos absorbidos desde el suelo en mayor medida por difusión e intercepción radicular (San Celedonio, 2015).

### 2.3.3. Generación de aerénquima durante el anegamiento

La saturación hídrica determina en planta una cadena de eventos que señalizan para la generación de los espacios porosos en el córtex de raíz, denominado esto aerénquima. Sobre lo dicho, en términos generales las raíces de plantas de trigo que son expuestas a inundación pueden desarrollar abundantes espacios porosos gracias al proceso de muerte celular programada (Malik et al., 2003).

La porosidad del aerénquima ofrecería a la planta una vía interna de baja resistencia para el movimiento de oxígeno (Aschi-Smiti 2003, Colmer et al. 2006), facilitando su transporte desde la parte aérea hasta la raíz (Aschi-Smiti 2003, Kolb y Joly 2009). El desarrollo de aerénquima también tiene como función el movimiento de gases desde el tejido radicular a la atmósfera, siendo esto un factor importante para la detoxificación y eliminación de gases como metano y etileno, los cuales se acumulan en cantidades tóxicas bajo condiciones de estrés por inundación en la raíz (Colmer, 2003). Por otra parte, Aguilera et al. (1999), Malik et al. (2003) también atribuyen al aerénquima ser de ayuda para el crecimiento de raíces durante condiciones de anoxia.

Por otro lado, bajo inundación se ha observado la formación de aerénquima en las raíces nodales, facilitando esto aún más la difusión de O<sub>2</sub> y por consiguiente la elongación de la raíz durante el estrés (Suralta y Yamauchi, 2008).

Respecto a la ubicación del aerénquima en el córtex de la raíz, es observado que el aerénquima se desarrolla en la zona ocupada por células corticales y que no se desarrolla ni en la rizodermis, ni en la endodermis, ni tampoco en el cilindro vascular (Justin y Armstrong, 1987).

Se ha demostrado como el etileno regula de modo importante la formación de aerénquima, siendo clave para su señalización (Jackson 1985, Drew et al. 1989, He et al. 1992, 1996a, 1996b, Gunawardena et al. 2001a, 2001b). Como fue previamente señalado, se asume que el etileno para iniciar la muerte celular programada y generar los espacios porosos, inicialmente es sintetizado en la raíz en estados de hipoxia, pero posteriormente al llegar la raíz a estado de anoxia, el etileno pasa a generarse en la parte aérea, exportándose su precursor desde la raíz de modo que en presencia de O<sub>2</sub> la ACC oxidasa no vea limitada su actividad (Bray et al., 2000).

#### 2.3.4. Respiración radicular en anegamiento

En anoxia, la fosforilación oxidativa por cadena respiratoria no es posible por falta de O<sub>2</sub>, por lo que la glicolisis se convierte en la principal ruta generadora de ATP para el mantenimiento del sistema radicular. Por otra parte, sin el catabolismo completo de glucosa, detenido el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa por falta de O<sub>2</sub> hace falta que el NADH generado durante la glicolisis sea re oxidado a NAD<sup>+</sup> por otras vías para preservar en funcionamiento la glicolisis. Referente a esto último, la fermentación láctica y etanólica, a partir del piruvato producido por la glicolisis, serían vías de respaldo para la generación de NAD<sup>+</sup> en el citosol (Armstrong, 1979).

Pero aun manteniendo la glicolisis por re oxidación del NAD<sup>+</sup> (cofactor necesario para las fosforilaciones a nivel de sustrato), el desmedro en el catabolismo completo de hexosas le significa a la raíz de la planta una disminución del 62 % en su capacidad de producir ATP (Armstrong 1979, Fukao et al. 2003, Lin et al. 2008, Peña-Fronteras et al. 2008, Taiz y Zeiger 2010).

Sobre la fermentación del piruvato durante la anoxia de la raíz para regenerar el NAD<sup>+</sup>, es a partir de acá desde donde comienzan a generarse los problemas metabólicos, ya que la fermentación láctica genera una baja en el pH citoplasmático y despolarización de la membrana citoplasmática, causando esto efectos negativos sobre el transporte activo de nutrientes tanto orgánicos como inorgánicos. En contrapartida, la fermentación etanólica, funcionaría como una alternativa metabólica viable para la regeneración del NAD<sup>+</sup> durante la anoxia, evitándose problemas de pH citoplasmático, ya que el producto de la fermentación alcohólica es etanol en lugar de lactato (Kato-Noguchi 2000, Kulichikhin et al. 2008, Taiz y Zeiger 2010).

Especies adaptadas a largos periodos de saturación hídrica como el arroz rápidamente incrementan la producción de etanol en desmedro de la generación de lactato al ser inundados, la fermentación alcohólica utiliza la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH), para, a partir de piruvato y NADH reducir el piruvato a acetaldehído y posteriormente a etanol, regenerando así en el proceso el NAD<sup>+</sup> (Couldwell et al., 2009). Pero, por otro lado, especies más susceptibles a inundación

como la cebada tienen niveles de fermentación alcohólica inferiores durante el estrés, regenerando así el NAD<sup>+</sup> en mayor medida por fermentación láctica, con la consecuente acidificación del citosol (Kato-Noguchi 2000, Taiz y Zeiger 2010).

Santosa et al. (2007) mencionan que el déficit de oxígeno aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), y Blokhina et al. (2003) explican que las mismas pueden determinar la generación de daño por peroxidación de lípidos en las membranas celulares. Por lo cual, otra característica de tolerancia al estrés por inundación es el aumento en la concentración de enzimas antioxidantes en la raíz de plantas bajo condiciones de hipoxia-anoxia.

Respecto a lo antes mencionado, por ejemplo; en la raíz de plantas de maíz, sometidas a inundación, se ha visto un incremento significativo en la actividad de la ascorbato peroxidasa (APX), la superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) todas enzimas del sistema antioxidante (Bin et al., 2010). El aumentar la capacidad antioxidante de la raíz es de alta relevancia, ya que las formas reactivas del oxígeno pueden causar numerosos prejuicios entre los que se cuentan; mutaciones, la disfunción de proteínas, la oxidación de lípidos, daños en membranas, inhibición de la síntesis de clorofila y, por lo tanto, disminución en la tasa fotosintética (Ella et al., 2003).

Sin embargo, durante largos periodos de anegamiento la capacidad de la planta para eliminar las formas reactivas del oxígeno disminuye y hay acumulación de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, YongZhong et al., 2010), esto debido a que durante un periodo de inundación prolongado los mecanismos reguladores de daño por estrés no tienen la capacidad para reparar el daño oxidativo y como consecuencia ocurre la peroxidación lipídica (Balakhina et al., 2010).

Concluyendo, en la medida que el oxígeno se agota gradualmente bajo condiciones de inundación, la deficiencia de O<sub>2</sub> en la raíz restringiría la respiración aeróbica, por lo que la producción de ATP se reduciría drásticamente, cayendo de 30 a 36 moles ATP funcionando en aerobiosis la fosforilación oxidativa mitocondrial hasta 2 o 4 moles ATP mediante glicolisis, ambas magnitudes consideradas por unidad hexosa (Bailey-Serres y Voesenek, 2008), otros autores mencionan más precisamente 2 ATP generados durante la glicolisis por cada molécula de glucosa a través de fosforilaciones a nivel de sustrato (Stryer 1995, Aschi-Smiti 2003, Taiz y Zeiger 2010). Sobre lo antes mencionado, pero precisamente en el caso cebada, Zeng et al. (2014) evaluaron el contenido de ATP para plantas de cebada anegadas una semana, observando reducciones del mismo de 2 a 3 veces en las raíces afectadas por el anegamiento.

#### 2.3.5. Efecto del anegamiento sobre la concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> radicular

Es esperable una acumulación de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) a nivel de raíz debido los efectos negativos combinados de; falta de transporte del NO<sub>3</sub><sup>-</sup> hacia el citosol y la

inactividad de la nitrato reductasa (ambos por falta ATP y flujo de electrones), la nitrato reductasa es la enzima necesaria para llevar el  $\text{NO}_3^-$  hasta amonio para así posteriormente ser usado por las células de la raíz para sintetizar aminoácidos. Asociado a lo antes mencionado; Lee (1978) observó que en condiciones aerobias y suministrando externamente carbohidratos, el nitrato fue asimilado por las raíces de cebada, esto coincide con las mediciones antes dichas. En cambio, el mismo autor, Lee (1978) observó que la asimilación de nitrato disminuyó en condiciones anegadas a causa del no suministro de glucosa, posiblemente por la falta de energía para su transformación a amonio y fijación en aminoácidos.

Otros autores consideran que la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en la raíz no se altera por la anoxia de la raíz, cuando la planta crece en suelos anegados (Malik et al., 2001).

Por otra parte, a nivel de suelo, en anegamiento, el  $\text{NO}_3^-$  pasa a  $\text{NO}_2^-$  y posteriormente a amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Cuando el nitrógeno es absorbido en forma de  $\text{NH}_4^+$  la planta lo combina con carbohidratos para producir aminoácidos, lo cual significa un costo extra de energía. Consecuentemente cuanto mayor es la absorción de  $\text{NH}_4^+$  la planta utilizará mayores cantidades de carbohidratos producidos por la fotosíntesis para formar aminoácidos y proteínas. Por otra parte, las plantas pueden almacenar grandes cantidades de  $\text{NO}_3^-$  hasta que las condiciones ambientales sean favorables para su posterior uso (Perdomo y Barbazán, 2010).

#### 2.4. RECUPERACIÓN POST-RETIRADO EL ANEGAMIENTO

San Celedonio (2015) midió la recuperación post anegamiento, cuando el estrés fue en distintos momentos ontogénicos de la cebada. En este trabajo se observó que, si bien la generación de biomasa se afecta en forma severa durante la aplicación del anegamiento, las plantas muestran un destacado grado de recuperación luego de retirado el mismo. Este efecto fue mayor cuanto más temprano en el ciclo se aplicó y retiro dicho estrés.

En el trabajo antes mencionado plantas de cebada anegadas tempranamente por periodos cortos de 15-20 días en muchos casos llegaron a floración (Z4 7-9) con una biomasa aérea similar a las plantas que crecieron sin anegamiento durante todo su ciclo. Esta recuperación podría explicarse a que, si bien la tasa de macollaje disminuye durante anegamientos tempranos en el ciclo (en etapa vegetativa), se encontró compensación en la parte aérea posteriormente en la etapa de recuperación, tal hecho adjudicado a una mayor duración del periodo de macollaje, logrando así un número de espigas establecidas similar a los controles. Lo previamente señalado referente a la capacidad de recuperación, es consecuencia de que la ocurrencia de anegamientos de corta duración en macollaje versus encañado permiten aun una extensión del periodo de generación del potencial de rendimiento, el cual es determinado en Z33.

La capacidad de recuperación de la cebada al anegamiento ocurrido en etapas tempranas del ciclo ontogénico se debe a que la planta posee mecanismos necesarios para la recuperación, como ser; el restablecimiento del sistema radicular o la aun capacidad de continuar el macollaje (relevante esta última en la recuperación cuando el anegamiento es en pre macollaje). Lo cual no ocurre cuando los eventos de anegamiento ocurren avanzado el ciclo del cultivo.

Por lo tanto, así como para anegamientos durante la post emergencia temprana, como para anegamientos entre macollaje a inicio de encañado, se observan que, por extensión del periodo de crecimiento de macollos, en conjunto a la capacidad de poder retomar el crecimiento radicular y también por la extensión de hojas aun no completamente extendidas en Z33, la recuperación de aquellos ensayos inundados tempranamente es con mejores retenciones de rendimientos. Los momentos tempranos en el ciclo para la imposición del estrés manifiestan entonces mejor recuperación, ya que la extensión del periodo de macollaje da más oportunidad a la fertilidad de los mismos (por crecer estos en desfasaje al estrés), y por otra parte el retorno del crecimiento radicular post retirado el anegamiento permitiría una posterior mejor conductancia hídrica en planta, esto último por el hecho de mejorar la exploración radicular, lo cual no es un hecho menor, ya que puede significar una mejora en la apertura estomática y consecuentemente en la actividad fotosintética del cultivo durante la recuperación.

Durante la recuperación, si bien los antecedentes muestran una mejor recuperación de la parte aérea respecto a la raíz, la relación raíz/tallo verde tiende a recuperarse, lográndose valores cercanos a los del control al momento de la floración. Por otro lado, para anegamientos durante macollaje, las diferencias respecto al control en rendimiento final son aparentemente consecuencia de las diferencias en biomasa aérea a madurez (San Celedonio, 2015). Otro aspecto a tratar es el índice de cosecha, constatado San Celedonio (2015) que las diferencias en índice cosecha son de menor relevancia como fuente de variación por el anegamiento. Finalmente, las mermas en el rendimiento, de haberlas fueron para dicho ensayo anegados tempranamente consecuencia de reducción del número de granos por efecto principal de menor fertilidad de macollos en primer lugar, y seguidamente consecuencia del número de granos por espiga, no apreciándose variaciones negativas en peso de granos (San Celedonio, 2015).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ENSAYO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó a través de un experimento efectuado en el invernáculo de la Facultad de Agronomía, sede Sayago. El ensayo fue sembrado el 26 junio de 2016. El experimento consistió en el estudio del efecto de un periodo de anegamiento durante el macollaje y también en la medición de su posterior recuperación ya retirado el estrés, en dos variedades de cebada INIA Arrayán caracterizada como tolerante y Norteña Carumbé, caracterizada como susceptible (Hoffman y Viega, 2011). Se usaron 3 tratamientos, control (regado a capacidad de campo), anegado en macollaje y recuperación de las parcelas antes anegadas, siempre para ambas variedades. Al tratamiento anegado en macollaje se le mantuvo una lámina de agua de alrededor de 2 cm por encima del suelo y la recuperación consistió en las parcelas anegadas a las cuales se le escurrió el exceso de agua del suelo.

Las plantas fueron crecidas en condiciones de capacidad de campo hasta pasado una semana de dar inicio macollaje, luego impuesta la saturación a las parcelas del tratamiento anegado, cuando las mismas estaban entre Z.22 a Z.25, se continuó regando la mitad de las unidades experimentales correspondientes a los controles manteniéndolas a capacidad de campo y la otra mitad fue mantenida a saturación hídrica manteniendo una lámina de agua por encima de la superficie del sustrato (anegamiento). Se usaron en todas las parcelas caños de PBC de 35 cm profundidad por 12,5 cm de diámetro, cada uno conteniendo un sustrato homogenizado compuesto por arena y vermiculita en proporciones volumétricas 1:1. En cada maceta se plantaron 6 semillas del mismo cultivar, luego de la emergencia se ralearon plántulas quedando definitivamente 3 plantas por maceta y 3 macetas por tratamiento, sumando un total de 30 macetas el ensayo. Para el riego se utilizó una solución con suficiencia nutricional conocida como solución de Hoagland.

El diseño experimental fue de parcelas completamente aleatorizadas con 3 repeticiones, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial. Los efectos de las fuentes de variación del experimento para cada variable se analizaron mediante un análisis de varianza (ANAVA), a través del programa estadístico R.

En el ANAVA se utilizó un nivel de significancia de 0,05. Para la separación de medias se utilizó la prueba de comparación múltiple del test de Tukey ( $P < 0,05$ ). Las fuentes de variación utilizadas en el modelo lineal general fueron variedad, condición hídrica.

Modelo experimental:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + R_j + (GR)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

**Y<sub>ij</sub>** =variable aleatoria observada en el i-esimo genotipo y en el j-esimo nivel de riego.

**μ** =media general “conceptual”.

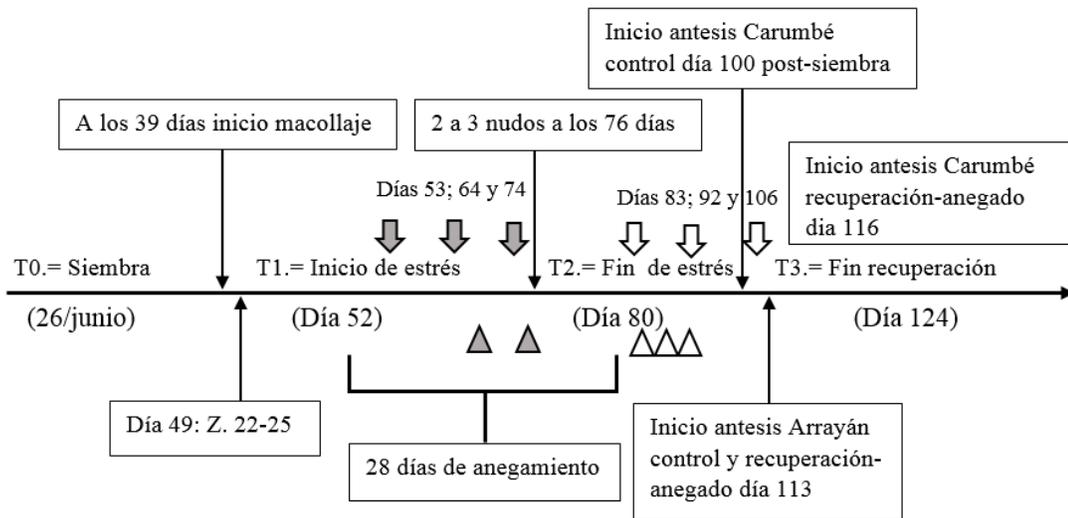
**G<sub>i</sub>** = efecto del i-esimo nivel del genotipo.

**R<sub>j</sub>** = efecto del j-esimo nivel de riego.

**(GR)<sub>ij</sub>** = efecto de la interacción del i-esimo nivel del genotipo y del j-esimo nivel del riego.

**ε<sub>ij</sub>** = variable aleatoria no observada, termino de error aleatorio asociado a la observación Y<sub>ij</sub>.

Figura 1. Línea temporal del ensayo y de los momentos de mediciones



Las flechas grises son mediciones de fluorescencia durante estrés y flechas blancas mediciones de fluorescencia durante el periodo posterior de recuperación, paralelamente triángulos grises son mediciones de conductancia durante estrés y triángulos con fondo blanco mediciones de conductancia durante la posterior recuperación.

En la Figura 1 se observa la línea temporal de los momentos en que se efectuaron los tratamientos y determinaciones durante el ensayo. Las 6 mediciones de fluorescencia fueron tomadas en los periodos estrés y recuperación (3 mediciones para

cada periodo), no se tomaron mediciones referentes a los primeros 52 días previos al estrés, por otro lado, las 5 mediciones de conductancia estomática obedecen la misma lógica (dos durante estrés y 3 posteriores durante la recuperación).

## 3.2. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES EVALUADAS

### 3.2.1. Biomasa de raíz y parte aérea

Para los momentos inicio de estrés, fin del estrés y fin de recuperación, se cosecharon las 3 plantas de cada maceta. Para las dos primeras cosechas se separaron cuidadosamente los sistemas radiculares de cada planta, en la última cosecha fueron cosechadas las partes aéreas y raíz por maceta, sin distinción de plantas.

Para las dos primeras cosechas una de las plantas fue secada a estufa durante 3 días a 60 °C y a partir de ella se estimó el peso seco por planta de ambas fracciones (raíz y aérea), y la suma de ambas fracciones, mientras que para la última cosecha esto se hizo para las tres plantas en su conjunto considerándose el peso raíz y parte aérea por planta dividiendo entre tres.

### 3.2.2. Concentración y cantidad de nitratos en raíz y parte aérea

Para la determinación de la concentración de nitratos en parte aérea y raíz se utilizó el método de Cataldo (1975), el material vegetal fue pulverizado en un mortero con nitrógeno líquido. Para la extracción y determinación de  $\text{NO}_3^-$  en cada fracción de la planta se diluyeron 150 mg de muestra en 2 ml de agua destilada, la muestra fue calentada a baño María en tubos de ensayo (a 90 °C durante 15 minutos). Posteriormente de sacados del baño María y dejar templarse se extrajo 0,1 ml (100  $\mu\text{l}$ ) de muestra a la que se le agregó 400  $\mu\text{l}$  de ácido salicílico al 5 % agitando y refrigerando en hielo durante todo el proceso, luego de 20 minutos se le agregó 9,5 ml de NaOH 3,8 N nuevamente refrigerando en hielo durante todo el proceso, Una vez enfriado, se tomó lectura de la absorbencia a 410 nm en un espectrofotómetro Shimatzu, utilizándose agua destilada para el blanco. Finalmente, la concentración de nitratos se calculó como  $Y=0,101443X$  (donde X= a la medición de absorbencia a 410 nm en el espectrofotómetro), terminando el cálculo con el valor Y dividido los mg de muestra inicialmente mencionados obteniendo así el resultado en micro moles/miligramo. Dicho estudio fue realizado para las cosechas pre inicio estrés y fin de estrés, no así para la última.

### 3.2.3. Concentración de carbohidratos totales solubles en parte aérea y raíz

Para la medición de CHOS en raíz y parte aérea se utilizó material vegetal molido en mortero con nitrógeno líquido y congelado. La extracción y determinación de los CHOS se realizó a través del método propuesto por Mc. Cready et al. (1950), Yemm et al. (1954), se pesó 100 mg. de muestra vegetal y se maceró con 1000 µl de etanol 80 %, luego se centrifugó 10 minutos a 5000 rpm. Se tomó 500 µl del sobrenadante y se le adicionó 2500 µl de antrona. Luego de agitar se llevó a baño María durante 10 minutos a 100°C, al enfriar a temperatura ambiente, se realizó una dilución 1/19 del extracto, usando como solvente 950 µl de antrona y 50 µl del extracto, finalmente fue tomada la lectura de la absorbencia a 625 nm en un espectrofotómetro Shimadzu. Luego para la interpretación de los datos se preparó una curva de calibración absorbencia vs. concentración de glucosa (mg/l). Dicho estudio fue realizado para las cosechas inicio y fin de estrés.

### 3.2.4. Emisión de fluorescencia de clorofila

La emisión de fluorescencia de clorofila se midió en la superficie adaxial de las hojas superiores del tallo principal según los descrito por Loggini et al. (1999), Maxwell y Johnson (2000) usando un sistema de medición de fluorescencia portátil modelo FMSI (Hansatech).

Las mediciones fueron hechas durante los días posteriores a la siembra 53, 64 y 74 durante el estrés y durante la recuperación en los días; 83, 92 y 105, también post siembra. Para ambos genotipos y tratamientos. Entendiendo que el estrés fue aplicado el día 52 post siembra hasta el día 80 post siembra, momento este último en que se retomó el drenaje para los tratamientos recuperación.

Los parámetros utilizados para el cálculo de las variables seleccionadas fueron 7; 1) mínima fluorescencia en oscuridad es el nivel de fluorescencia cuando la plastoquinona A (Qa) está en su estado máximo de oxidación con los centros del PSII abiertos (Fo), 2) máxima fluorescencia en oscuridad es el nivel de fluorescencia cuando Qa está en su máximo estado de reducción con los centros del PSII cerrados (Fm), 3) fluorescencia mínima en luz es el nivel de fluorescencia cuando Qa está en su estado máximo de oxidación con los centros del PSII abiertos (Fo'), 4) fluorescencia máxima en luz se trata del nivel de fluorescencia cuando Qa está en su máximo estado de reducción con los centros del PSII cerrados (Fm'), 5) fluorescencia en su estado estacionario (Ft), 6) fluorescencia cuando se dan pulsos saturantes en oscuridad a una hoja previamente adaptada a la luz (estudio de relajación para despejar como disipa el calor) (Fm'')y 7) fluorescencia variable en hojas adaptadas a oscuridad, que muestra la capacidad fotoquímica del PSII o sea capacidad de reducir la Qa (Fv).

Utilizando los parámetros previamente mencionados se procedió a la confección de las variables de estudio, las cuales son: 1) Phi PSII (donde Phi es rendimiento cuántico), 2) Phi NPQ (rendimiento cuántico de la extinción no fotoquímica, inducida por luz reguladora), 3) Phi NPQ fast, 4) Phi NPQ slow; son respectivamente los rendimientos cuánticos de los componentes rápidos y lentos del enfriamiento regulador no fotoquímico inducido por la luz, 5) Phi NO representativo del rendimiento cuántico del proceso de disipación no fotoquímico constitutivo, no regulatorios (en oscuridad), 6) Phi Po (rendimiento cuántico máximo del PSII en fotoquímica para un estado adaptado a la oscuridad, Lazar, 2015).

### 3.2.5. Conductancia estomática

Las mediciones fueron hechas durante el estrés días post siembra 66 y 75 y durante la recuperación días 83, 87 y 93. Para ambos genotipos y tratamientos. Entendiendo que el estrés fue aplicado el día 52 post siembra hasta el día 80 post siembra, momento este último en que se re tomo el drenaje para los tratamientos recuperación. Se utilizó un porómetro marca Decagon.

### 3.2.6. Aerénquima

Se efectuaron cortes con hoja de afeitar en la base de la raíz de las plantas cosechadas previo al anegamiento (cosecha inicial) y en la cosecha fin del anegamiento. Los cortes fueron en la zona correspondiente a la parte superior de la raíz principal desde donde crecen las raíces nodales, para posteriormente observar mediante lupa binocular los cortes previamente teñidos. Solamente se definió la presencia o ausencia de aerénquima.

### 3.2.7. Generación de raíces adventicias a fin de estrés

Fueron cosechadas y pesadas las raíces adventicias observadas sobre el sustrato en todas las parcelas anegadas al tiempo de finalizado el estrés, fueron secadas a estufa durante 3 días a 60°C, tanto en las macetas cosechadas a fin del anegamiento como en las que pasaron del anegamiento a recuperación. Las parcelas control no presentaron raíces adventicias sobre el sustrato al tiempo de retirado el estrés ni finalizado el ensayo.

### 3.2.8. Macollaje y nudos

Se contó para las tres cosechas el número de tallos y el número de nudos solamente en las primeras dos cosechas (pre estrés y fin estrés). En el conteo de tallos se diferenció en el caso de la última cosecha el orden de los mismos según tamaño

(jerarquizándolos en tallos  $\geq 10$  cm., tallos entre 5 a 10 cm. y menores a 5 cm.), también se observó para la última cosecha la fertilidad de tallos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. PARÁMETROS MORFOLÓGICOS

#### 4.1.1. Biomasa de raíz y parte aérea para todas las fechas de cosecha

En el Cuadro 1 se presentan los valores promedios obtenidos para cada momento de cosecha de la biomasa acumulada en parte aérea y raíz por planta en cada tratamiento. Respecto a la primera cosecha, no se observó diferencias entre variedades, ni en la parte aérea ni raíz, los cultivares iniciaron el periodo de estrés habiendo acumulado la misma biomasa ( $p < 0,05$ ).

Cuadro 1. Peso seco parte aérea y raíz promedio por cultivar y tratamiento para las tres cosechas efectuadas (preestrés, fin de estrés y fin de recuperación, respectivamente cosechas 1, 2 y 3)

Momento	Variedad	Condición tratamiento	Peso seco parte aérea (g)	Peso seco raíz (g)
Cosecha 1	Carumbé	Riego con drenaje	0,31	0,12
	Arrayán		0,31	0,11
Cosecha 2	Carumbé	control	3,23 b	0,84
		anegamiento	1,69 a	0,9
	Arrayán	control	3,31 b	1,1
		anegamiento	1,43 a	0,82
Cosecha 3	Carumbé	control	13,09 b	2,5
		recuperación	9,23 a	1,52
	Arrayán	control	11,02	2,36
		recuperación	9,8	2,1

Letras diferentes entre tratamientos de un mismo cultivar muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Finalizado el periodo de estrés (cosecha 2) la biomasa de raíz a diferencia de lo esperado no mostró diferencias significativas ni entre variedades ni entre tratamientos. En cambio, la biomasa de parte aérea, fue diferente según el tratamiento considerado. En ambos cultivares la biomasa aérea fue menor en el tratamiento anegado que en el control. Por otro lado, las parcelas no anegadas no mostraron raíces adventicias sobre el sustrato, Sobre esto ambas variedades en tratamiento anegado tuvieron en promedio 0,2071 gramos de raíces adventicias al día 80. Pero exceptuando lo antedicho, para la parte raíz no fue observada diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos

control no anegado y anegado para ninguna de las dos variedades y tratamientos.

Para el caso peso seco parte aérea, si fue vista diferencia significativa entre tratamientos a la segunda cosecha, siendo significativamente a un ( $p < 0,05$ ) mejores los controles respecto a los anegados, tanto para Carumbé 3,228 g. como para Arrayán 3,313g.

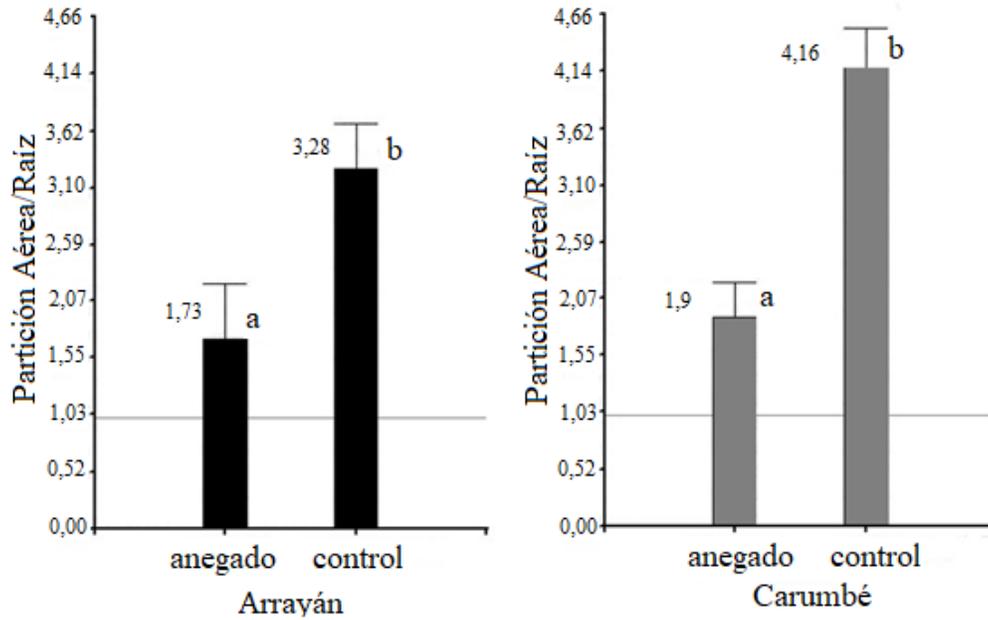
La biomasa de la parte aérea finalizado el periodo de recuperación no mostró diferencias significativas en el caso de Arrayán. Por su parte el cultivar Carumbé mantuvo las diferencias significativas entre tratamientos. Este comportamiento diferencial ente los cultivares podría explicar la categorización previa de cultivar susceptible en el caso de Carumbé.

Por otro lado, la biomasa de raíz se mantuvo sin diferencias significativas entre tratamientos y variedades, sin poder definir estadísticamente que ningún tratamiento haya sido mejor que otra entre los tratamientos anegado-recuperación y los respectivos controles al día 124. Sin embargo, se observa que la raíz de Arrayán, tratamientos anegado-recuperación versus control-recuperación están mucho más cercana en materia seca (2,1 gr. vs. 2,36 gr. respectivamente), comparativamente a la diferencia vista entre las raíces de los tratamientos anegado-recuperación y control-recuperación en Carumbé (1,52 gr. y 2,5 gr. respectivamente).

#### 4.1.2. Efecto del anegamiento sobre la partición de biomasa parte aérea / raíz

Se evaluó la partición parte aérea/raíz por planta (P.A/P.R) entre los periodos cosecha inicial a fin estrés entre los días 52 al día 80 y la misma partición entre el periodo cosecha fin de estrés a fin de recuperación entre los días 80 a 124. Se hallaron únicamente diferencias significativas para el primer caso (fin de estrés), ambos genotipos Arrayán y Carumbé mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) favorable a sus respectivos controles no anegados entre los días 52 a 80 del ensayo, presentando la media estadística de los controles 53 y 46 % de superioridad respectivamente respecto a los anegados.

Figura 2. Relación parte aérea/ raíz promedio al finalizar el periodo de estrés

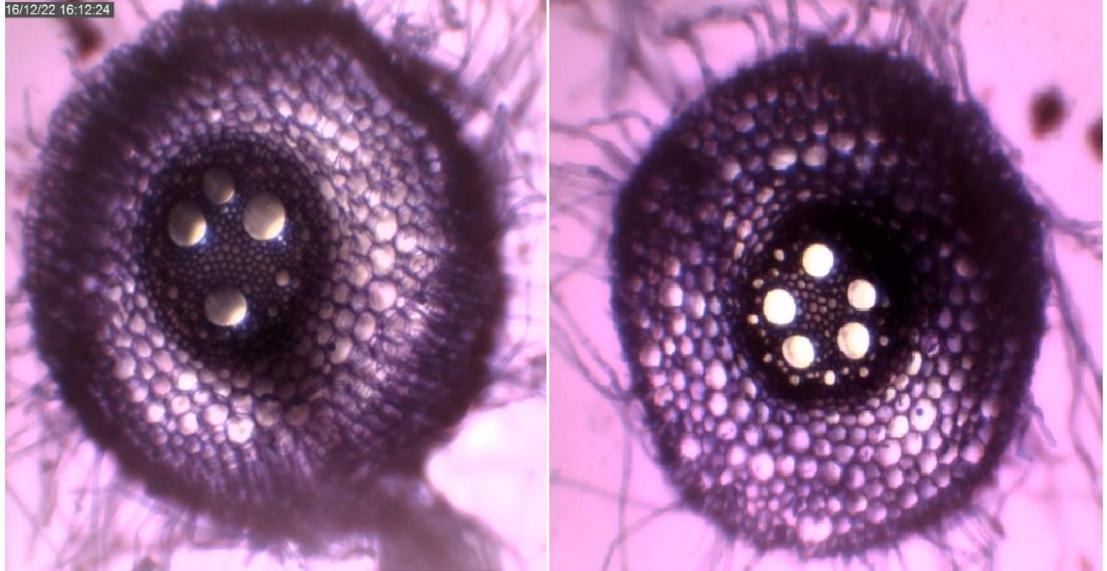


Se observa el cultivar Arrayán a la izquierda y cultivar Carumbé a la derecha para los tratamientos anegado y control.

#### 4.1.3. Efecto del anegamiento sobre la generación de aerénquima en la raíz

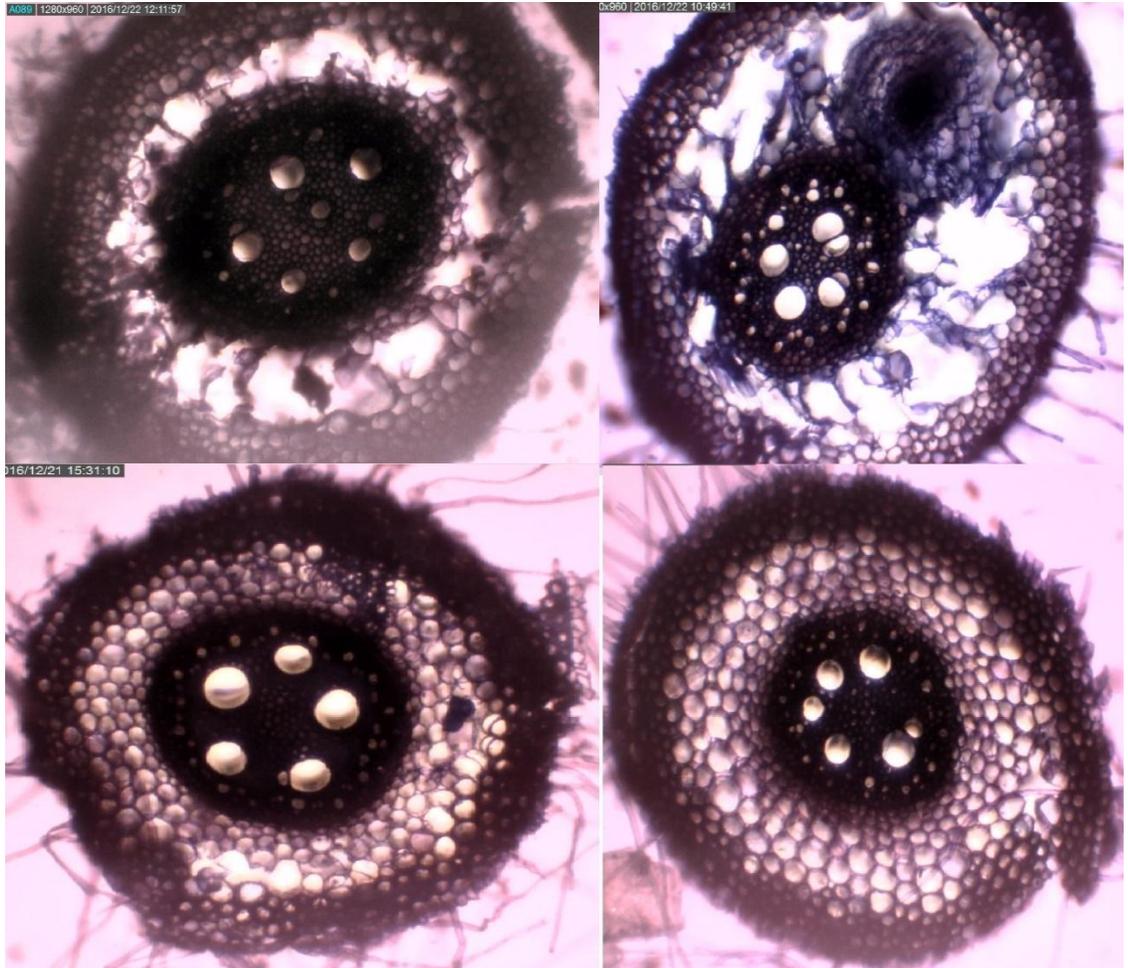
Para ambas variedades los tratamientos anegados desarrollaron aerénquima durante el periodo estrés, constatándose la presencia del mismo en todas las raíces inundadas a fin de estrés. Ninguna de las raíces control para ambos genotipos mostraron presencia de aerénquima.

Figura 3. Anatomía de raíz al inicio del periodo de estrés, para ambos genotipos



Carumbé a la izquierda y Arrayán a la derecha.

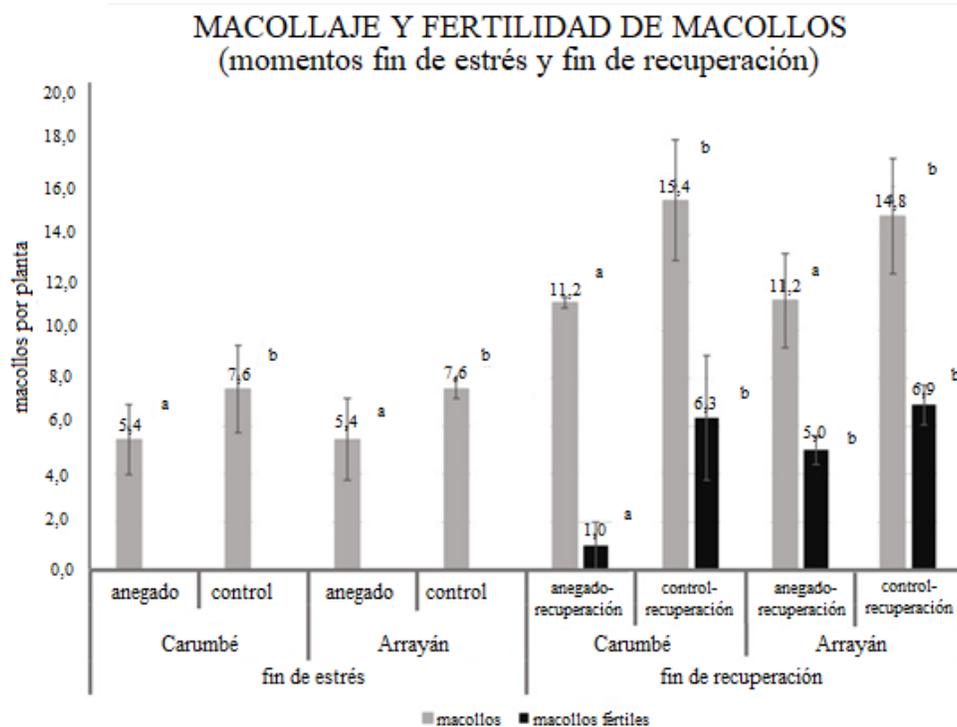
Figura 4. Anatomía de raíz post estrés ambos genotipos



Carumbé a la izquierda y Arrayán a la derecha, en la parte superior las plantas anegadas y abajo sus respectivos controles.

#### 4.1.4. Efecto del anegamiento sobre el macollaje y fertilidad de los tallos

Figura 5. Número promedio de macollos por planta a fin del periodo de estrés y al final del periodo de recuperación



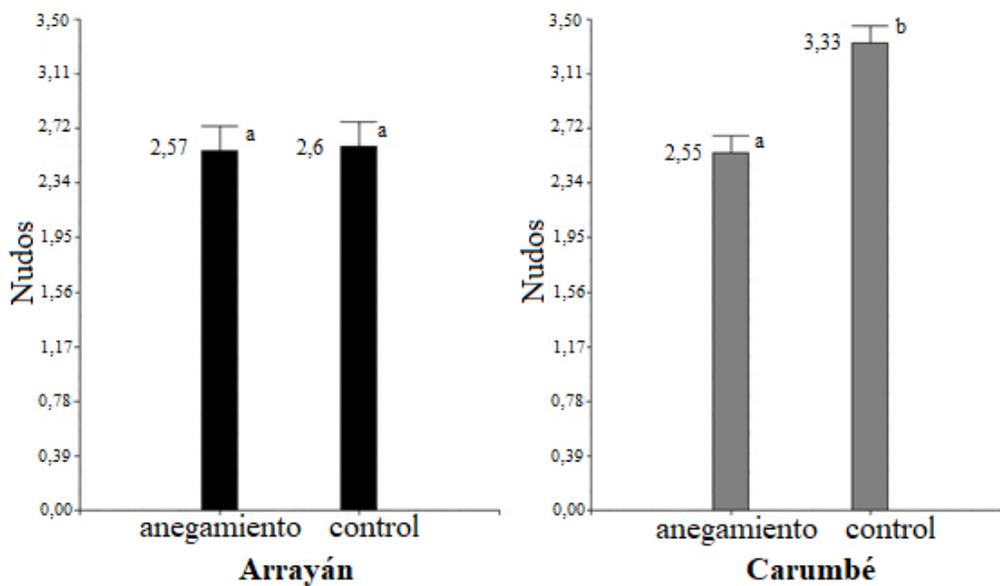
Número promedio de macollos por planta a fin del periodo de estrés para los tratamientos anegado y control de los cultivares Carumbé y Arrayán (izquierda) y al final del periodo de recuperación (derecha) (barras grises). Número promedio de tallos fértiles al finalizar el periodo de recuperación (barras oscuras) para cada cultivar y tratamiento.

Se observó diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) para número de macollos al momento de terminado el estrés favorable a los controles de ambos genotipos. Posteriormente al periodo de recuperación, se observó una diferencia significativa favorable a los controles no anegados ( $p < 0,06$ ). Respecto al número de macollos fértiles al final del periodo de recuperación Arrayán logró un número de macollos fértiles (espigados) similar a su control al día 124 ( $p < 0,05$ ); 47% y 44,4% Arrayán control recuperación y anegada recuperación respectivamente. El cultivar Carumbé anegado, no logró equiparar al control, mostrando una escasa capacidad de recuperación y por tanto un muy bajo número de espigas por planta. Para la última medición de macollaje no fueron contados tallos menores a 10 cm. ni marchitos.

#### 4.1.5. Efecto sobre el conteo de nudos a fin de estrés

Fue observada diferencia estadística al ( $p < 0,05$ ) para la variedad Carumbé próximo a fin de estrés para la variable conteo de nudos en el tallo principal entre los tratamientos anegado y control (observándose 0,78 nudos más en la media estadística de los controles respecto a la de los anegados), no así para Arrayán cuyas medias estadísticas entre los tratamientos anegado versus control no difirieron estadísticamente.

Figura 6. Número de nudos promedio por tallo a fin del periodo de estrés



Tratamientos Arrayán anegado y control (izquierda) y Carumbé anegado y control (derecha).

## 4.2. EFECTOS SOBRE VARIABLES FISIOLÓGICAS

### 4.2.1. Estudio de la fluorescencia

Las determinaciones de fluorescencia y sus distintos parámetros durante el periodo de estrés (M1, M2 y M3) y durante la recuperación (M4, M5 y M6) mostraron diferencias de acuerdo al cultivar y tratamiento.

Referente a Phi PSII el valor mínimo lo presentó el cultivar Carumbé luego del anegamiento y en el periodo de recuperación (M4) (primera medición retirado el estrés) observándose un 28 % de eficiencia cuántica para el PSII, mientras que la máxima medición para el mismo genotipo y variable fue al momento 1 (primera medición durante el anegamiento) para el tratamiento control con un 54 % para dicha variable. Por otro lado, Arrayán mostró su valor mínimo a lo largo de los 6 momentos de estudio también en el momento 4 (primera medición retirado el estrés) para el tratamiento control con un 23% de eficiencia cuántica para el PSII, mientras que la máxima observación para dicha variable en Arrayán fue al momento 3, ósea a los 20 días de anegadas las parcelas en el tratamiento anegado con 50% de Phi PSII.

A lo largo de las seis fechas de medición de fluorescencia, la única diferencia significativa al 0,05 de significancia para Phi PSII, fue en el momento 3 (última medición durante el estrés). Dicha diferencia se explica por el comportamiento del cultivar Arrayán que mostró valores superiores en el tratamiento anegado que en el control (50 % versus 39 %, estrés y control, respectivamente).

Asociado a lo anterior, pero en referencia a la variable Phi NPQ, al momento 3, hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para el cultivar Arrayán, observándose que el valor de Phi NPQ en el genotipo Arrayán anegado fue menor que en el control o sea disipó menos energía como calor respecto al control lo cual, si bien está asociada de modo esperable al mayor rendimiento cuántico visto en Arrayán anegado para Phi PSII, no es esto consecuencia de los tratamientos aplicados.

Los valores de Phi NPQ para el cultivar Carumbé oscilaron entre una mínima de 30 % en el momento 1 (primera medición durante el estrés) para Carumbé control, hasta un valor máximo de 45 % de Phi NPQ, para los momentos 4 y 6 en Carumbé control y anegado-recuperación, respectivamente.

Por otro lado, Arrayán tuvo su mínima observación para Phi NPQ al momento 2 en el tratamiento anegado con 37% y la máxima de Phi NPQ de 52 % en el momento 4 (primera medición en recuperación) en el tratamiento control.

Para el momento 3 Arrayán control mostró 45 % de eficiencia cuántica para la disipación de energía como calor (Phi NPQ), valor que ponderado por su medición previa es alto.

Por lo dicho, no se halla una tendencia de fechas que se ajuste a los tratamientos para Phi NPQ, más allá de que para M3 Arrayán anegado fue extrañamente más eficiente en los que respecta al PSII ( $p < 0,05$ ) ya que se mantuvo respecto a la medición en M2 y que como en consecuencia disipó menos calor como no fotoquímica (menor Phi NPQ ( $p < 0,05$ )) para la misma fecha de medición (M3) respecto a los controles no anegados de Arrayán.

La diferencia significativa hallada para phi NPQ slow fue también sin relación clara a los tratamientos realizados, ya que el anegado mostró este valor más bajo. Dicho parámetro estima las disipaciones de calor no regulado con posible generación de daño a las membradas tilacoidales. Para la medición 2 Carumbé control duplica esta variable respecto a M1, pasando de 5,2 % en M1 hasta un 14% en M2 y aunque Carumbé anegado duplico su resultado en M2 respecto a M1, pasando de 5 % a 10.5 %, aun así, Carumbé anegado fue un 27 % menor en M2 respecto al control no anegado, se esperaría que si la diferencia significativa fuese relacionada al tratamiento el control no anegado fuese menor para la misma respecto al anegado. Posteriormente los resultados para phi NPQ slow al muestreo 3 bajan para ambos genotipos y tratamientos; bajando un 59,5 % al momento 3 (última medición en estrés) en Carumbé control respecto a M2 y una baja del 42,9 % para Carumbé anegado M3 respecto a M2.

Las variables; Phi NO representativo del rendimiento cuántico del proceso de disipación no fotoquímico constitutivo, no regulatorios (en oscuridad) y Phi NPQ fast rendimiento cuántico de la disipación de calor regulada sin generación de daño, no mostraron diferencias significativas al ( $p < 0,05$ ) en ninguno de los momentos de medición. Observándose como máximo de Phi NO para Carumbé al momento M2 durante el anegamiento, pero en el caso del control no anegado fue de 34,5 % y un mínimo en la medición 3 también durante el anegamiento para el caso anegado (14,6 %). El Phi NO en Arrayán también fue máximo al momento 2 pero para el tratamiento anegado (31,3 %), mientras que la mínima medición fue al momento 3 también tratamiento anegado. Por lo dicho previamente se destaca la gran variabilidad entre mediciones sucesivas para Phi NO, ya que del M3 al M2 se registran las máximas mediciones para esta variable y las mínimas respectivamente. Pasando a la siguiente variable mencionada sin diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) Phi NPQ fast, la máxima medición fue para Carumbé en el momento 6 en el tratamiento anegado recuperación (39%) y la mínima medición para el control en el momento 2 (17,4%). Mientras que en Arrayán el máximo valor fue al momento 4 el caso control no anegado (43%) y la mínima al momento 2 para el tratamiento anegado.

#### 4.2.2. Efecto del anegamiento y posterior recuperación sobre la conductancia estomática

No se encontraron diferencias significativas en conductancia estomática para ninguno de los genotipos, para ninguno de los momentos de medición, no observándose diferencias entre los tratamientos anegado versus control, ni durante el estrés, ni tampoco posterior a retirado el mismo durante la recuperación.

La primera medición durante el anegamiento (a los 11 días de iniciado el mismo) para Arrayán (133 versus 156 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado y control, respectivamente), y a la misma fecha, pero en Carumbé (123 y 150 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado y control, respectivamente) no fueron estadísticamente diferentes.

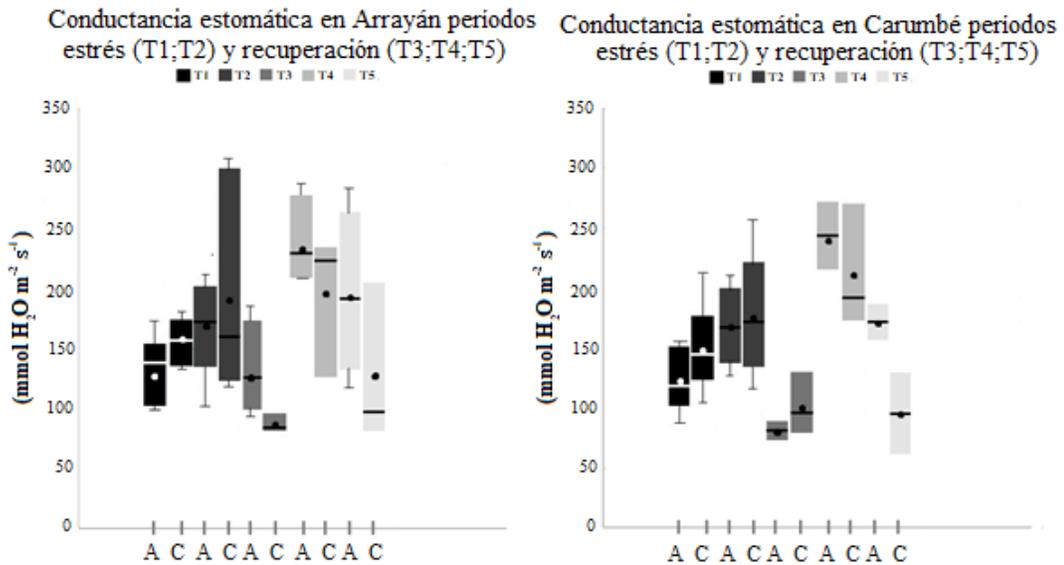
A los 20 días de iniciado el estrés los valores de conductancia fueron de 167 y 195 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado y control, respectivamente en Arrayán, y en Carumbé 168 y 178 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado y control, respectivamente.

Las mediciones luego de retirado el estrés, fueron: para Arrayán al tercer día de retirado el estrés 133 y 87 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado en recuperación y control, respectivamente, y para la misma fecha, para Carumbé 82 y 102 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado en recuperación y control, respectivamente.

Al sexto día de retirado el estrés (medición 4) los resultados para Arrayán fueron 239 y 195 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado en recuperación y control, respectivamente, y 244 y 212 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> para Carumbé anegado en recuperación y control, respectivamente.

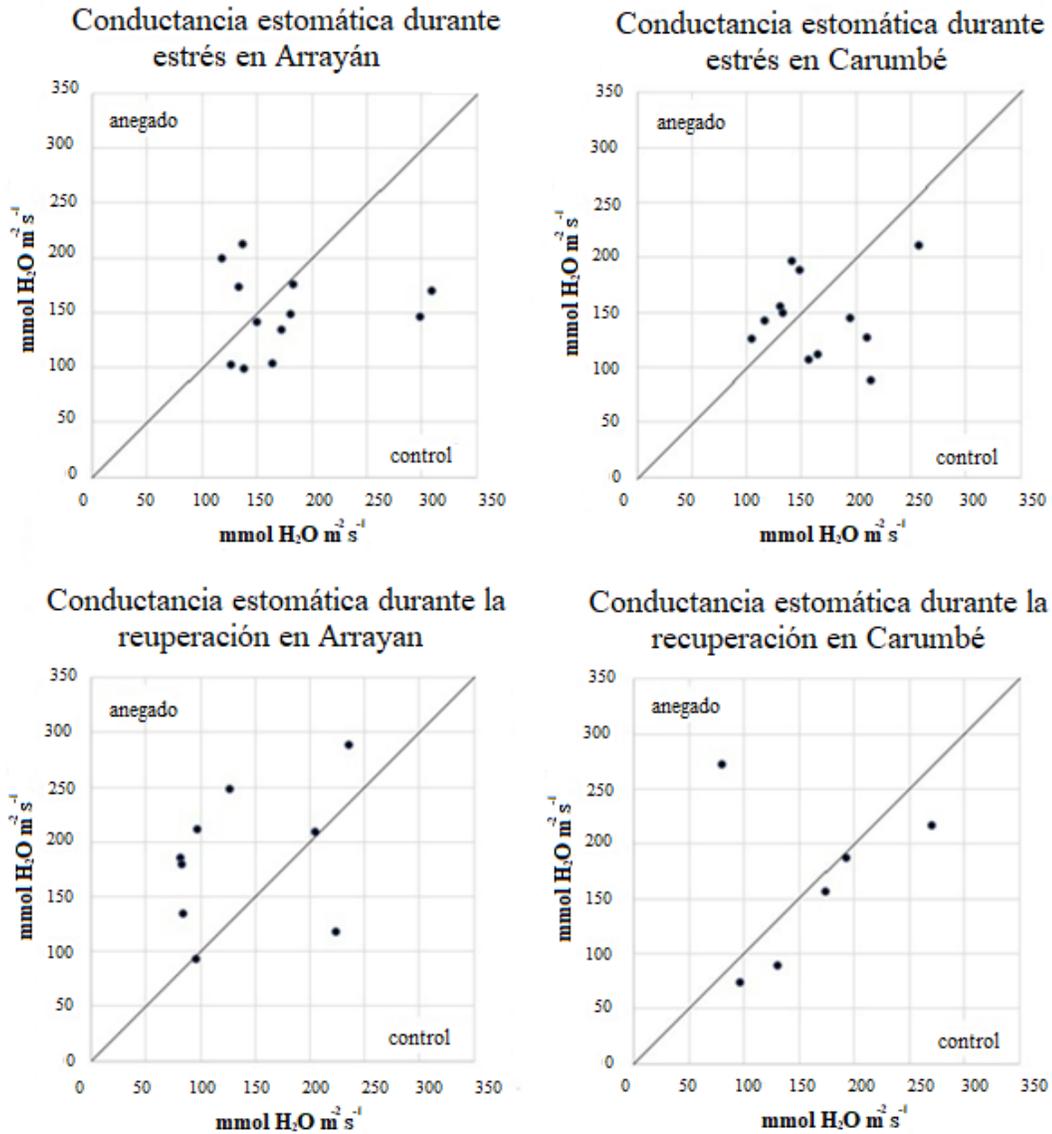
Finalmente, al doceavo día de retirado el estrés los resultados en conductancia estomática para Arrayán fueron 196 y 128 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> anegado en recuperación y control, respectivamente y para Carumbé 172 y 96 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> también anegado en recuperación y control respectivamente.

Figura 7. Conductancia estomática promedio durante y posterior al estrés



T1 y T2 son mediciones durante estrés y T3, T4 y T5 mediciones durante la recuperación de las parcelas para ambas variedades, Arrayán (izquierda) y Carumbé (derecha). Las letras A y C corresponden a los tratamientos anegado y control respectivamente, para ambos cultivares.

Figura 8. Relación 1:1 entre las mediciones promedio de conductancia estomática entre el valor del tratamiento control y el tratamiento anegado, durante el periodo estrés y durante la posterior recuperación



Relación 1:1 entre las mediciones promedio de conductancia estomática entre el valor del tratamiento control y el tratamiento anegado, durante el estrés (arriba) y durante la fase de recuperación (abajo) para los cultivares Arrayán (izquierda) y Carumbé (derecha). En el último gráfico, se destaca abajo a la izquierda la gran diferencia durante la recuperación en Arrayán anegado contra su respectivo control, diferencia mucho más acentuada que en el caso Carumbé recuperación.

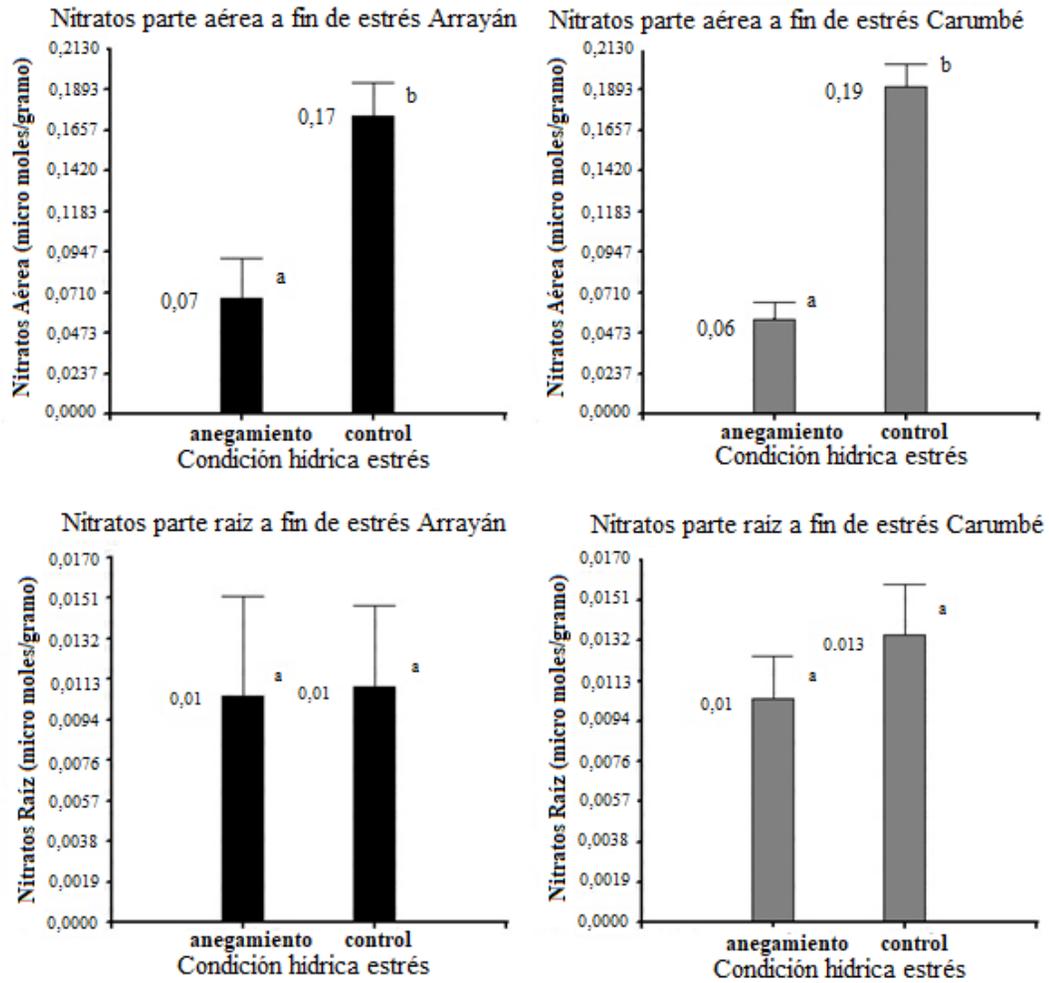
En la Figura 8 se aprecia un mejor funcionamiento de las hojas en Arrayán recuperación (mayor conductancia estomática), sugiriendo esto una mejor performance fotosintética en la recuperación de Arrayán contrastando la misma variable con Carumbé.

#### 4.2.3. Medición de $\text{NO}_3^-$ en parte aérea y raíz para los momentos pre inicio de estrés y fin de estrés

No se observó diferencia estadística entre Arrayán y Carumbé a los 52 días del ciclo, previo a la aplicación del estrés, cuando las parcelas se hallaban entre 2 a 5 macollos por planta. Presentando tanto Arrayán como Carumbé para parte aérea 0,32 micro moles/gramo de  $\text{NO}_3^-$ , y en raíz 0,03 y 0,02 micro moles/gramo de  $\text{NO}_3^-$  Arrayán y Carumbé respectivamente.

En contrapartida si hubo diferencias significativas para la medición a fin de estrés en parte aérea para  $\text{NO}_3^-$ , no así en parte raíz donde a fin del periodo de anegamiento anegados y controles tuvieron medias estadísticas significativamente iguales.

Figura 9. Concentración de nitratos al finalizar el estrés en parte aérea y raíz para ambos genotipos



Concentración de nitratos al finalizar el estrés en parte aérea (arriba) y raíz (abajo) para Arrayán (izquierda) y Carumbé (derecha).

#### 4.2.4. Medición de carbohidratos en parte aérea y raíz momentos pre inicio de estrés y fin de estrés

Los resultados mostraron una gran variabilidad por lo que no se pudieron ajustar los modelos para esta variable.

## 5. DISCUSIÓN

En la presente tesis se evaluó, a partir de parámetros morfo-fisiológicos, la respuesta a la saturación hídrica durante el macollaje en cebada (*Hordeum vulgare* L.). Para lo cual se evaluaron dos genotipos de cebada (Arrayán y Carumbé). La anoxia se implementó desde poco después de inicio del macollaje hasta poco después de iniciado el encañado, todo en condiciones semi-controladas.

La etapa del ciclo en que se desarrolló el estrés, fue aquella en donde se da la generación del rendimiento, de modo que éste interfiere durante el periodo de definición del máximo número de espigas potencialmente alcanzable por planta, así como el máximo número de espiguillas por espiga (Miralles et al., 2014).

Por otro lado, para cebada, la tasa de macollaje es fundamental en la generación del rendimiento ya que aquellos macollos que se trasformen en espigas presentarán únicamente una única flor por espiguilla (podrán formar únicamente un grano por espiguilla), por lo que en este aspecto pierde en plasticidad frente a otros cereales (Miralles et al., 2014).

Se cumplió para la presente tesis lo visto por Hoffman y Viega (2011a), en lo que a tolerancia refiere, que dentro de las variedades de cebada usadas en el presente trabajo; Arrayán caracterizada como tolerante, mantuvo frente a anegamiento rendimientos semejantes a trigo, mientras que por el contrario Carumbé caracterizado susceptible repitió en el presente ensayo el mismo comportamiento.

El estrés impuesto durante el macollaje significó un menor crecimiento de la parte aérea de ambos genotipos, sin afectar el crecimiento radicular. En la fase de recuperación se mostró una mayor capacidad de crecimiento en parte aérea y raíz del cultivar Arrayán (aunque las diferencias en crecimiento radicular no fueron significativas). Este mejor comportamiento de Arrayán puede ser explicado por una mayor conductancia estomática durante la fase de recuperación (Figura 8). Esto pudo significar una mayor capacidad fotosintética al permitir un mayor ingreso de CO<sub>2</sub> permitiendo un mayor incremento de la biomasa aérea y una mejor fertilidad de los tallos.

Si bien para biomasa aérea hubo diferencias significativas a final del periodo de estrés favorable a los controles, cabe la pregunta de si la temperatura no afectó ésta ya que Morales y Scaglioni (2017) para dicha variable sembrando el 10 de junio no observaron diferencia para biomasa aérea a fin del periodo de estrés, pero sí tuvieron diferencias significativas para la siembra de julio al momento de finalizado el estrés, sugiriendo que la mayor temperatura pudo tener influencia en los resultados obtenidos

en el presente ensayo (Cuadro 1).

Por otra parte, Morales y Scaglioni (2017), observaron reducción significativa de la biomasa radicular al finalizar el estrés tanto en Arrayán como en Carumbé para siembras de mediados de junio como también de julio, contrario a lo visto en el presente ensayo. En el presente ensayo si bien fue afectada la morfología y el funcionamiento de los sistemas radiculares en ambas variedades, no fue vista una diferencia significativa para la biomasa radicular a fin de estrés.

Sobre la partición de la biomasa aérea/raíz, como fue explicado, solamente hubo diferencias significativas durante el estrés y para ambos genotipos, no así durante la recuperación de las parcelas donde no se halló diferencia significativa alguna. Esto no es de extrañar ya que ambos genotipos tuvieron significativamente reducido su biomasa aérea, así como el macollaje por efecto del estrés durante el macollaje.

En estados tempranos del desarrollo del ciclo del cultivo aún hay la posibilidad de mecanismos necesarios que permitan la recuperación del cultivo; como ser el restablecimiento del sistema radical, o la aun activa capacidad de macollaje (más relevante está ultima en la recuperación de anegamientos ocurridos en pre-macollaje). Sobre la recuperación post estrés, también la extensión del periodo de crecimiento de macollos da más oportunidad para la fertilidad de los mismos, pudiendo actuar también como mecanismo relevante en la recuperación al estrés. Por lo cual se cumplió en el presente ensayo que las plantas anegadas tempranamente en Arrayán llegaron posteriormente durante la recuperación del cultivo con una biomasa aérea similar a las plantas que crecieron sin anegamiento durante todo su ciclo, probablemente por un mejor funcionamiento de las hojas en sincronía al sistema radicular.

Pero contrario a lo que ciertos autores señalan, Arrayán en este ensayo no extendió su ciclo a antesis en las parcelas anegado respecto a control, esto último fue diferente en Carumbé, cultivar que extendió dicho periodo 16 días por efecto del anegamiento sin lograr una recuperación significativa ni de la biomasa aérea, ni tampoco en número de espigas. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por San Celedonio (2015) que observó que en cebada existió un mayor retraso en días a antesis cuando el periodo de anegamiento ocurre justamente en macollaje, en comparación con variedades de trigo.

Como efecto del estrés en las raíces de ambas variedades se generaron raíces adventicias y hubo formación de aerénquima. Sin embargo, esto no puede explicar de por si la performance del cultivo, ya que, aunque ambas variedades los generaron durante el estrés solamente Arrayán logró alcanzar a su control no anegado en biomasa aérea y fertilidad de macollos.

Al finalizar el periodo de estrés la variedad Carumbé mostró un mayor número

de nudos en el tratamiento control que en el anegado. Ello significa que esta variedad retrasó su ciclo por efecto del anegamiento. Sin embargo, ello no significó una ventaja durante el proceso de recuperación.

La reducción de los  $\text{NO}_3^-$  en la parte aérea a fin de estrés para ambos genotipos puede estar asociada al cierre estomático durante el estrés y corte del flujo de masas vía xilema.

Acerca de los  $\text{NO}_3^-$  en la parte raíz, se esperaría ver diferencias significativas en ensayos sembrados más tarde, colocando el ciclo del cultivo a mayor temperatura, probablemente observando mayores concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en los controles no anegados, como fue visto por Furtado (2017).

Como fue mencionado en la parte de resultados, el estudio de los CHOS no brindó información respecto a los tratamientos.

El estudio de la fluorescencia, no dio diferencias significativas como efecto del estrés. Estos resultados sugieren que la etapa fotoquímica no fue afectada por la anoxia. Por lo cual las diferencias en la capacidad fotosintética, sobre todo en la fase de recuperación se explicaría por un descenso en la etapa bioquímica de la fotosíntesis para el cultivar Carumbé.

## 6. CONCLUSIONES

Se observó una reducción en la reposición del nitrato de la raíz a la parte aérea durante el estrés para ambos genotipos, probablemente consecuencia de una reducción en el flujo de masas vía xilema. También se vieron afectadas negativamente para ambos genotipos la biomasa aérea, la partición aérea/raíz y el macollaje durante la anoxia de la raíz.

La presente tesis confirma que Arrayán es más tolerante a eventos de anoxia en comparación a Carumbé por consecuencia de cómo se desarrolla durante la recuperación, una vez retirado el estrés. La apertura estomática durante la recuperación es determinante para una recuperación post estrés en biomasa aérea y fertilidad de macollos, y es probable que tal mejoría en Arrayán recuperación durante las mediciones de porómetros sean consecuencia de un mejor crecimiento radicular durante la recuperación.

La generación de aerénquima y raíces adventicias no garantizan una recuperación en biomasa aérea ni en fertilidad de macollos.

En lo referente a la fotosíntesis es en la etapa bioquímica donde se explica la recuperación al estrés en Arrayán y no por la etapa fotoquímica de la fotosíntesis.

## 7. RESUMEN

En el presente ensayo la anoxia al sistema radicular no fue aplicada durante el periodo de concreción del rendimiento y mayor susceptibilidad del cultivo, durante el periodo crítico. El anegamiento del sistema radicular fue implementado durante la etapa de generación del rendimiento (macollaje), fue posteriormente retirado el estrés al momento aproximado de ya comenzar el encañado, momento a partir del cual la tasa de crecimiento se hace máxima. Por tratarse de cebada, un cereal de espiguillas unifloras, con un grano por espiguilla, se espera menor plasticidad ante pérdidas en biomasa aérea y fertilidad de macollos. No se midió el efecto del estrés directamente sobre el rendimiento. Llegando a ver los efectos de la anoxia en macollaje y durante la posterior recuperación una vez retirado el mismo hasta la extensión de las espigas fuera de las vainas, observándose la fertilidad de tallos, biomasa aérea y radicular al fin del periodo de recuperación. Se desarrolló el ensayo tomando mediciones de distintas variables, tanto morfológicas como fisiológicas que abarcaron diferentes etapas del ciclo del cultivo; momento de inicio de macollaje, momento de máximo número de macollos y momento del máximo número de primordios (espiguillas potenciales), hasta observada finalmente la fertilidad de macollos. Por último, fue observada en la presente tesis diferencias estadísticas entre genotipos para la concreción del rendimiento (fertilidad de macollos y biomasa aérea), por consecuencia de la respuesta durante la recuperación post retirado el estrés.

Palabras clave: Anegamiento; Cebada; Recuperación; Genotipos; Fertilidad.

## 8. SUMMARY

In the present trial, Waterlogging was applied to the root system, during this process, anoxia (absence of oxygen) was observed, the flooding was not applied during the critical period (consolidation of the performance and greater susceptibility of the crop). The waterlogging of the root system was implemented during the stage of generation of the tillers, and removed before the beginning of the enclosing of the tiller, when the rate of growth is maximum. Since barley, is a cereal with a single grain per ear, less plasticity is expected, therefore losses in aerial biomass and fertility of the stems is predicted. The effect of stress produced by the anoxia were not measured directly on performance, but on the formation of stems, and during the subsequent recovery of the plant, these effects were observed on the spreading of the spikes outside the sheaths, the fertility of the stems, and at the aerial and radicular biomasses at the end of the recovery period. The test was developed by taking measurements of the anoxia effects on different variables, both morphological and physiological. These effects were taken during different stages of the crop cycle: at the beginning of the stem generation, at the moment of maximum number of stems per cluster and during the moment of maximum number of primordial (potential spikes), until lastly observed at the stem fertility. Finally, it was observed in this assay, statistical differences between genotypes for the consolidation of stem fertility and aerial biomass, as a result of the response to the stress during the recovery stage.

Key words: Waterlogging; Barley; Recovery; Genotypes; Fertility.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Aggarwal, P. K.; Kalra, N.; Chander, S.; Pathak, H. 2006. InfoCrop: a dynamic simulation model for the assessment of crop yields, losses due to pests, and environmental impact of agro-ecosystems in tropical environments. I. Model description. *Agric. Sys.* 89:1-25.
2. Aguilara, E. A.; Turnera, D. W.; Sivasithamparam, K. 1999. Aerenchyma formation in roots of four banana (*Musa spp.*) cultivars. *Sci. Hortic.* 80: 57-72.
3. Alaoui-Sossé, B.; Gérard, B.; Binet, P.; Toussaint, M.-L.; Badot, P.-M. 2005. Influence of flooding on growth, nitrogen availability in soil, and nitrate reduction of young oak seedlings (*Quercus robur* L.). (en línea). *Ann. For. Sci.* 62: 593-600. Consultado 27 jun. 2017. Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/41703086\\_Influence\\_of\\_flooding\\_on\\_growth\\_nitrogen\\_availability\\_in\\_soil\\_and\\_nitrate\\_reduction\\_of\\_young\\_oak\\_seedlings\\_Quercus\\_robur\\_L](https://www.researchgate.net/publication/41703086_Influence_of_flooding_on_growth_nitrogen_availability_in_soil_and_nitrate_reduction_of_young_oak_seedlings_Quercus_robur_L)
4. Alzueta, I.; Abeledo, L. G.; Mignone, C. M.; Miralles, D. J. 2012. Differences between wheat and barley in leaf and tillering coordination under contrasting nitrogen and sulfur conditions. *Eur. J. Agron.* 41:92-102.
5. Armstrong, W. 1979. Aeration in higher plants. *Adv. Bot. Res.* 7:225–232
6. Aschi-Smiti, S.; Chaibi, W.; Brouquisse, R.; Ricard, B.; Saglio, P. 2003. Assessment of enzyme induction and aerenchyma formation as mechanisms for flooding tolerance in *Trifolium subterraneum* 'Park'. *Ann. Bot.* 91:195–204.
7. Ashraf, M.; Rehman, H. 1999. Interactive effects of nitrate and long term waterlogging on growth, water relation and gaseous exchange properties of maize (*Zea mays* l.). *Plant Sci.* 144: 35-43.
8. Bailey-Serres, J.; Voisenek, L. A. C. J. 2008. Flooding stress acclimations and genetic diversity. *Annu Rev Plant Biol.* 59:313-39.
9. Baker, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: a Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:89-113.
10. Balakhnina, T. I.; Bennicelli, P.; Stepniewska, Z.; Stepniewski, W.; Fomina, I. R. 2010. Oxidative damage and antioxidant defense system in leaves of

*Vicia faba major* L. cv. Bartom during soil flooding and subsequent drainage. *Plant Soil*. 327: 293-301.

11. Barlow, P. W. 1994. The origin, diversity and biology of shoot-borne roots. In: Davis, T. D.; Haissig, B. E. eds. *Biology of adventitious root formation*. New York, Plenum. pp. 2-35.
12. Bin, T. X.; Shang-Zhong, Z.; Xi-Ling, Z.; Yong-Lian, inicial nombre; Fa-Zhan, Q. 2010. Changes of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of waterlogging- tolerant and waterlogging sensitive maize genotypes at seedling stage. *Agr. Sci. China*. 9(5):651-661.
13. Blokhina, O.; Virolainen, E.; Fagerstedt, K. V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* 91:179–194.
14. Bramley, H.; Turner, N. C.; Turner, D. W.; Tyerman, S. D. 2010. Contrasting influence of mild hypoxia on hydraulic properties of cells and roots of wheat and lupin. (en línea). *Funct. Plant Biol.* 37: 183-193. Consultado 7 jul. 2017. Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/262995887\\_Root\\_growth\\_of\\_lupins\\_is\\_more\\_sensitive\\_to\\_waterlogging\\_than\\_wheat](https://www.researchgate.net/publication/262995887_Root_growth_of_lupins_is_more_sensitive_to_waterlogging_than_wheat)
15. Bray, E. A.; Bailey-Serres, J.; Weretilnyk, E. 2000a. Responses to abiotic stresses. In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. eds. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville, MD, American Society of Plant Biology. pp. 1158–1203.
16. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2000b. Response to abiotic stresses. In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. L. eds. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Maryland, USA, American Society of Plant Physiologists. pp. 1051-1104.
17. Cannell, R.; Belford, R.; Gales, K.; Thomson, R.; Webster, C. 1984. Effects of waterlogging and drought on winter wheat and winter barley grown on a clay and a sandy loam soil. *Plant Soil*. 80:53-66.
18. Cataldo, D.; Haroon, M.; Schrader, L.; Youngs, V. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plan.* 6: 71 - 80.
19. Collaku, A.; Harrison, S. A. 2002. Losses in wheat due to waterlogging. *Crop Sci.* 42: 444-450.

20. Colmer, T. D. 2003. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. *Plant Cell Environ.* 26:17–36.
21. \_\_\_\_\_.; Cox, M. C. H.; Voesenek, L. A. C. J. 2006. Root aeration in rice (*Oryza sativa*): evaluation of oxygen, carbon dioxide, and ethylene as possible regulators of root acclimatizations. *New Phytol.* 170: 767-778.
22. \_\_\_\_\_.; Greenway, H. 2011. Ion transport in seminal and adventitious roots of cereals during O<sub>2</sub> deficiency. *J. Exp. Bot.* 62: 39-57.
23. Couldwell, D. L.; Dunford, R.; Kruger, N. J.; Lloyd, D. C.; Ratcliffe, R. G.; Smitdh, A. M. O. 2009. Response of cytoplasmic pH to anoxia in plant tissues with altered activities of fermentation enzymes: application of methyl phosphonate as an NMR pH probe. *Ann. Bot.* 103:249-258.
24. Drew, M. C.; He, C. J.; Morgan, P. W. 1989. Decreased ethylene biosynthesis, and induction of aerenchyma, by nitrogen- or phosphate-starvation in adventitious roots of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 91:266–271.
25. \_\_\_\_\_. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:223-250.
26. Ella, E. S.; Kawano, N.; Ito, O. 2003. Importance of active oxygen-scavenging system in the recovery of rice seedlings after submergence. *Plant Sci.* 165: 85-93.
27. Etherington, J. R. 1984. Comparative studies of plant growth and distribution in relation to waterlogging: X. Differential formation of adventitious roots and their experimental excision in *Epilobium hirsutum* and *Chamerion angustifolium*. *J Ecol.* 72(2):389–404.
28. Everard, J. D.; Drew, M. C. 1989. Mechanisms controlling changes in water movement through the roots of *Helianthus annuus* L. during continuous, exposure to oxygen deficiency. *J Exp. Bot.* 40(210):95-104.
29. Fagerstedt, K. V.; Crawford, R. M. M. 1987. Is anoxia tolerance related to flooding tolerance? *Funct. Ecol.* 1:49–55.
30. Fukao, T.; Kennedy, R. A.; Yamasue, Y.; Rumpho, M. E. 2003. Genetic and biochemical analysis of anaerobically induced enzymes during seed

germination of *Echinochloa crus-galli* varieties tolerant and intolerant of anoxia. J. Exp. Bot. 54: 1421-1429.

31. Gibbs, J.; Turner, D. W.; Armstrong, W.; Darwent, M. J.; Greenway, H. 1998. Response to oxygen deficiency in primary maize roots. I. Development of oxygen deficiency in the stele reduces radial solute transport to the xylem. Aust. J Plant Physiol. 25: 745–758.
32. \_\_\_\_\_; Greenway, H. 2003. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. Funct. Plant Biol. 30: 1-47.
33. Gunawardena, A. H. L. A. N.; Pearce, D. M.; Jackson, M. B.; Hawes, C. R.; Evans, D. E. 2001a. Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia I roots of maize. Planta. 212:205–214.
34. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; Jackson, M. B.; Hawes, C. R.; Evans, D. E. 2001b. Rapid changes in cell wall pectic polysaccharides are closely associated with early stages of aerenchyma formation, a spatially localized form of programmed cell. Plant Cell Environ. 1369-1375.
35. Harrington, C. A. 1987. Responses of red alder and black cottonwood seedlings to flooding. Physiol. Plant. 69(1):35–48.
36. Hay, R. K. M.; Kirby, E. J. M. 1991. Convergence and synchrony-a review of the coordination of development in wheat. Aust. J. Agric. Res. 42: 661-700.
37. Hayashi, T.; Yoshida, T.; Fujii, K.; Mitsuya, S.; Tsuji, T.; Okada, Y.; Hayashi, E.; Yamauchi, A. 2013. Maintained root length density contributes to the waterlogging tolerance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Field Crops Res. 152: 27-35.
38. He, C. J.; Morgan, P. W.; Drew, M. C. 1992. Enhanced sensitivity to ethylene in nitrogen-starved or phosphate-starved roots of *Zea mays* L. during aerenchyma formation. Plant Physiol. 98:137–142.
39. \_\_\_\_\_; Finlayson, S. A.; Drew, M. C.; Jordan, W. R.; Morgan, P. W. 1996a. Ethylene biosynthesis during aerenchyma formation in roots of maize subjected to mechanical impedance and hypoxia. Plant Physiol. 112:1679–1685.
40. \_\_\_\_\_; Morgan, P. W.; Drew, M. C. 1996b. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize

during aerenchyma formation induced by hypoxia. *Plant Physiol.* 112:463–472.

41. Hillel, D. 1998. *Environmental soil physics: fundamentals, applications, and environmental considerations*. (en línea). San Diego, CA, Academic Press. 771 p. Consultado mar. 2017. Disponible en [https://scholar.google.com.uy/scholar?q=Hillel,+D.+1998.+Environmental+soil+physics%3B+fundamentals,+applications,+and+environmental+considerations&hl=es&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholar&sa=X&ved=0ahUKEwjus7bgpbzVAhXEFZAKHSq0B3wQgQMIJTA](https://scholar.google.com.uy/scholar?q=Hillel,+D.+1998.+Environmental+soil+physics%3B+fundamentals,+applications,+and+environmental+considerations&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar&sa=X&ved=0ahUKEwjus7bgpbzVAhXEFZAKHSq0B3wQgQMIJTA)
42. Hoffman, E.; Ernst, O.; Viega, L.; Benitez, A.; Olivo, N.; Borghi, E. 2001. Efectos del exceso hídrico en los cultivos de invierno. Montevideo, Facultad de Agronomía. 18 p.
43. \_\_\_\_\_; Viega, L.; Cadenazzi, M.; Benítez, A.; Gestido, V.; Mesa, P.; Fernandes, R.; Baeten, A.; Glison, N. 2009. Bases morfo-fisiológicas que justifican el manejo diferencial de cultivares de trigo y cebada en Uruguay. Paysandú, Facultad de Agronomía. 8 p.
44. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2011a. Caracterización preliminar de cultivares de trigo y cebada por su comportamiento al estrés hídrico. *In*: Castro, A. J.; Hoffman, E.; Viega, L. eds. Limitaciones para la productividad de trigo y cebada. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 53-58.
45. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Baeten, A.; Lamarca, A.; Lamarca, M.; Wornicob, S. 2011b. Respuesta de 7 cultivares de trigo al déficit y exceso hídrico durante el encañado. *Cangüé*. no. 31: 10-17.
46. Huang, B.; Johnson, J. W.; NeSmith, D. S.; Bridges, D. C. 1994. Growth, physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to waterlogging and nutrient supply. *J Exp. Bot.* 45:193–202.
47. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 1995. Nutrient accumulation and distribution of wheat genotypes in response to waterlogging and nutrient supply. *Plant Soil.* 173: 47-54.
48. Ishag, H. M.; Mohamed, B. A.; Ishag, K. H. M. 1998. Leaf development of spring wheat cultivars in an irrigated heat-stressed environment. *Field Crops Res.* 58:167-175.
49. Jackson, M. B. 1985. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36:145–174.

50. Kato-Noguchi, H. 2000. Evaluation of the importance of lactate for the activation of ethanolic fermentation in lettuce roots in anoxia. *Physiol. Plant.* 109: 28-33.
51. Kirby, E. J. M.; Riggs, T. J. 1978. Developmental consequences of two-row and six-row ear type in spring barley: 2. Shoot apex, leaf and tiller development. *J. Agric. Sci.* 91: 207-216.
52. Kolb, R. M.; Joly, C. A. 2009. Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: Metabolic, morphological and growth responses. *Flora.* 204:528-535.
53. Kovar, J. L.; Kuchenbuch, R. O. 1994. Commercial importance of adventitious rooting to agronomy. In: Davis, T. D.; Haissig, B. E. eds. *Biology of adventitious root formation.* New York, Plenum. pp. 43-55.
54. Kozłowski, T. 1984. *Flooding and Plant Growth.* New York, Academic Press. pp. 265-269.
55. Kreuzwieser, J.; Furniess, S.; Rennenberg, H. 2002. Impact of waterlogging on the N-metabolism of flood tolerant and non-tolerant tree species. *Plant, Cell Environ.* 25 (8):1039-1049.
56. Kulichikhin, K. Y.; Aito, O.; Chirkova, T. V.; Fagerstedt, K. V. 2007. Effect of oxygen concentration on intracellular pH, glucose-6-phosphate and NTP content in rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticumaestivum*) root tips: in vivo <sup>31</sup>P-NMR study. *Physiol. Plant.* 129: 507–518.
57. \_\_\_\_\_; Chirkova, T. V.; Fagerstedt, K. 2008. Intracellular pH in rice and wheat root tips under hypoxic and anoxic conditions. *Plant Signal. Behav.* 3:240–242.
58. Lazar, D. 2015. Parameters of photosynthetic energy partitioning. *J. Plant Physiol.* 175. 131-147.
59. Lee, R. B. 1978. Inorganic nitrogen metabolism in barley roots under poorly aerated conditions. *J. Exp. Bot.* 29 (110): 693-708.
60. Li, C.; Jiang, D.; Wollenweber, B.; Li, Y.; Dai, T.; Cao, W. 2011. Waterlogging pretreatment during vegetative growth improves tolerance to waterlogging after anthesis in wheat. *Plant Sci.* 180: 672-678.
61. Liao, C. T.; Lin, C. H. 2001. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. *Proc. Natl. Sci. Counc. Repub. China (B).* 25:148-157.

62. Limpinuntana, V.; Greenway, H. 1979. Sugar accumulation in barley and rice grown in solutions with low concentrations of oxygen. *Ann. Bot.* 43: 373-381.
63. McCready, R. M.; Guggolz, J.; Silviera, V.; Owens, H. S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* 22:1156-1158.
64. Malik, A. I.; Colmer, T. D.; Lambers, H.; Setter, T. L.; Schortemeyer, M. 2001. Changes in physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 1121-1131.
65. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2002. Shortterm waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. *New Phytol.* 153: 225-236.
66. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Schortemeyer, M. 2003. Aerenchyma formation and radial O<sub>2</sub> loss along adventitious roots of wheat with only the apical root portion exposed to O<sub>2</sub> deficiency. *Plant Cell Environ.* 26: 1713-1722.
67. Maxwell, K.; Johnson, G. 2000. Chlorophyll fluorescence –a practical guide. (en línea). *J. Exp. Bot.* 51(345): 659-668. Consultado 1 set. 2016. Disponible en [http://www.plantstress.com/methods/chl\\_fluorescence.pdf](http://www.plantstress.com/methods/chl_fluorescence.pdf)
68. Miralles, D. J.; Windauer, L. B.; Gómez, N. V. 2003a. Factores que regulan el desarrollo de los cultivos de granos. In: Satorre, E.; Benech-Arnold, R.; Slafer, G. A.; de la Fuente, E.; Miralles, D.; Otegui, M.; Savín, R. eds. *Producción de granos: bases funcionales para su manejo*. Buenos Aires, Argentina, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. pp. 61-74.
69. \_\_\_\_\_.; Slafer, G. A.; Richards, R. A. 2003b. Influence of historic photoperiod during stem elongation on the number of fertile florets in wheat. *J. Agr. Sci. (Cambridge)*. 141: 155-158.
70. \_\_\_\_\_.; Abeledo, G.; De San Celedon, R. 2014a. Identifying the critical period for waterlogging on yield and its components in wheat and barley. *Plant Soil.* 378:265-277.
71. \_\_\_\_\_.; Gonzáles, F. G.; Abeledo, L. G.; Serrago, R. A.; Alzueta, I.; García, G. A.; San Celedonio, R. P.; Valvo, P. 2014b. *Manual de trigo y cebada*

para el cono sur procesos fisiológicos y bases de manejo. Buenos Aires, Argentina, FAUBA. pp. 7-28.

72. Morales, L. I.; Scaglioni, F. 2017. Caracterización de la respuesta al anegamiento durante el macollaje en trigo y cebada. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. pp.14-36.
73. Moog, P. R.; Janiesch, P. 1990. Root growth and morphology of *Carex* species as influenced by oxygen deficiency. *Funct. Ecol.* 4:201–208.
74. Pang, J.; Ross, J.; Zhou, M.; Mendham, N.; Shabala, S. 2004. Growth and physiological responses of six barley genotypes to waterlogging and subsequent recovery. *Aust. J. Agric. Res.* 55: 895-906.
75. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2007. Amelioration of detrimental effects of waterlogging by foliar nutrient sprays in barley. *Funct. Plant Biol.* 34: 221-227.
76. Pardos, J. 2004. Respuestas de las plantas al anegamiento de suelos. *Invest. Agrar.* 56: 101-107.
77. Peña-Fronteras, J. T.; Villalobos, M. C.; Baltazar, A. M.; Merca, F. E.; Ismail, A. M.; Johnson, D. E. 2008. Adaptation to flooding in upland and lowland ecotypes of *Cyperus rotundus*, a troublesome sedge weed of rice: tuber morphology and carbohydrate metabolism. *Ann. Bot.* 103: 295-302.
78. Perdomo, C.; Barbazán, M. 2010. Nitrógeno. Montevideo, Facultad de Agronomía. 72 p.
79. Quero, G; Bonnacarrère, V; Fernández, S; Silva, P; Simondi, S. 2018. Light-use efficiency and energy partitioning in rice is cultivar dependent. *Photosynth Res.* 140: 51-63.
80. Ritter, W. F.; Beer, C. E. 1969. Yield reduction by controlled flooding of corn. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 12:46-50.
81. Samad, A.; Meisner, C. A.; Saifuzzaman, M.; Van Ginke, M. 2001. Waterlogging tolerante. *In*: Reynolds, M. P.; Ortiz – Monasterio, M. I.; McNab, A. eds. *Application of physiology in wheat breeding*. México, CIMMYT. pp. 136- 144.
82. San Celedonio, R. P.; Brihet, J. M.; Abeledo, L. G.; Miralles, D. J. 2011. Sensibilidad de trigo y cebada al anegamiento a lo largo de su ciclo

ontogénico. In: Castro, A.; Hoffman, E.; Viega, L. eds. Limitaciones para la productividad de trigo y cebada. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. pp. 147-153.

83. \_\_\_\_\_. 2015. Sensibilidad de trigo y cebada al anegamiento y su interacción con la disponibilidad de nitrógeno. Buenos Aires, Argentina, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. 139 p.
84. Santosa, I.; Ram, P.; Boamfa, E.; Laarhoven, L.; Reuss, J.; Jackson, M.; Harren, F. 2007. Patterns of peroxidative ethane emission from submerged rice seedlings indicate that damage from reactive oxygen species takes place during submergence and is not necessarily a post-anoxic phenomenon. *Planta*. 226:193–202.
85. Setter, T. L.; Waters, I. 2003. Review of prospects for germplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant Soil*. 253: 1-34.
86. Solaiman Z.; Colmer T. D.; Loss S. P.; Thomson B. D.; Siddique K. H. M. 2007. Growth responses of cool-season grain legumes to transient waterlogging. *Aust. J Agric. Res.* 58(5):406–412.
87. Striker, G. G. 2012a. Flooding stress on plants; anatomical, morphological and physiological responses. In: Mworia, J. K. ed. *Botany*. Buenos Aires, FAUBA. pp. 3-28.
88. \_\_\_\_\_. 2012b. Time is on our side: the importance of considering a recovery period when assessing flooding tolerance in plants. *Ecol. Res.* 27: 983-987.
89. Stryer, L. 1995. *Bioquímica*. 4<sup>a</sup>. ed. Barcelona, España, Reverté. 138 p.
90. Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. (en línea). 5th.ed. Sunderland, Sinauer. 782 p. Consultado feb. 2017. Disponible en <https://www.sinauer.com>
91. Trought, M. C. T.; Drew, M. C. 1980. The development of waterlogging damage in wheat seedling (*Triticum aestivum* L.) I. Shoot and root growth in relation to changes in the concentrations of dissolved gases and solutes in the soil solution. *Plant Soil*. 54: 77-94.

92. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; 1980. The development of waterlogging damage in young wheat plants in anaerobic solution cultures. *J. Exp. Bot.* 31 (125): 1573-1585.
93. Yemm, E. W.; Willis, A. J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57: 508-514.
94. Yong, C.; Min, G.; Ye, C.; Chong-Shun, Z.; Xue-Kun, Z.; Han-Zhong, W. 2010. Combining ability and genetic effects of germination traits of *Brassica napus* L. under waterlogging stress condition. *Agr. Sci. China.* 9(7): 951-957
95. Yordanova, R. Y.; Popova, L. P. 2001. Photosynthetic response of barley plants to soil flooding. *Photosyntetica.* 39(4): 515-520.
96. Zaidi, P.; Rafique, S.; Singh, N. 2003. Response of maize (*Zea mays* L) genotypes to excess soil moisture stress: morpho-physiological effects and basis of tolerance. *Eur. J Agron.* 19:383-399.
97. Zeng, J. F.; Shabala, L.; Zhou, M.; Zhang, G.; Shabala, S. 2013. Barley responses to combined waterlogging and salinity stress: separating effects of oxygen deprivation and elemental toxicity. *Plant Sci.* 10.3389.
98. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2014. Linking oxygen availability with membrane potential maintenance and K<sup>+</sup> retention of barley roots: implications for waterlogging stress tolerance. *Plant Cell Environ.* 37(10):2325-2338.