

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

ANÁLISIS DE LA RESPUESTA FOTOSINTÉTICA EN CLONES DE *Eucalyptus*
grandis SOMETIDOS A
CAMBIOS EN LA RADIACIÓN LUMÍNICA

por

Juan Manuel DUHALDE SARRÍES

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
2021

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. Dr. Omar Borsani

Lic. Biol. Dr. Gastón Quero

Lic. MSc. Esteban Casaretto

Fecha: 22 de diciembre de 2021

Autor:

Juan Manuel Duhalde Sarríes

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor el Lic. Biol. Dr. Gastón Quero por ser la guía de este trabajo y el apoyo constante para poder lograrlo.

Al Ing. Agr. Dr. Omar Borsani por haber sido mi tutor en los últimos años de la carrera y haberme permitido la realización de este proyecto.

A mi familia por el apoyo constante durante toda la carrera.

A Luna por el apoyo y preocupación constante.

Al Ing. Agr. Sebastián Piazza por la generosidad en ofrecer información y contención.

A la empresa forestal Lumin por haberme brindado el material con el cual se realizó este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 OBJETIVOS	2
1.1.1 <u>Objetivo general</u>	2
1.1.2 <u>Objetivos específicos</u>	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. GÉNERO EUCALYPTUS	3
2.1.1 <u>Eucalyptus grandis</u>	3
2.2 AMBIENTE LUMÍNICO	4
2.2.1 <u>Respuestas de las plantas a la luz</u>	5
2.3 FOTOSÍNTESIS	5
2.3.1 <u>Fotosíntesis oxigénica</u>	6
2.3.2 <u>Proceso fotoquímico</u>	7
2.3.3 <u>Proceso bioquímico</u>	7
2.4 REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOQUÍMICA EN FUNCIÓN DE LA LUZ	8
2.5 FLUORESCENCIA DE LAS CLOROFILAS	9
2.5.1 <u>Técnicas de medición</u>	10
2.5.2 <u>Partición de energía</u>	11
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	13
3.1 MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO	13
3.2 TRATAMIENTO DE LUZ	13
3.3 PARÁMETROS DE RENDIMIENTO CUÁNTICO	15

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	16
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	17
4.1 CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS DE PARTICIÓN DE ENERGÍA	17
4.2 EFECTO DE LAS FUENTES DE VARIACIÓN SOBRE LA PARTICIÓN DE ENERGÍA DEL PSII	19
4.2.1 <u>Interacción entre el ambiente lumínico de desarrollo de la hoja y la intensidad de excitación del PSII</u>	20
4.2.2 <u>Efecto del ambiente lumínico de desarrollo de la hoja sobre la partición de energía del PSII en los distintos genotipos de <i>Eucalyptus grandis</i></u>	23
4.3 PROPUESTAS	26
5. <u>CONCLUSIONES</u>	27
6. <u>RESUMEN</u>	28
7. <u>SUMMARY</u>	29
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	30
9. <u>ANEXOS</u>	34

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Figura No.	Página
1. Ejemplo de firma de fluorescencia para análisis de quenching y de relajación con fluorómetro PAM	14
2. Ambiente lumínico: densidad de flujo de fotones y calidad espectral. Y fotos de la distribución de los plantines en invernáculo y cámaras de crecimiento	17
3. Correlaciones entre los parámetros y subparámetros de partición de energía	22
4. Correlación entre los parámetros Φ_{PSII} y Φ_{qp} en función de la interacción ambiente lumínico-luz de excitación del PSII	25
5. Correlación entre los parámetros Φ_{NPQ} y $\Phi_{NPQFast}$ en función de la interacción ambiente lumínico-luz de excitación del PSII	27
6. Correlación entre los parámetros Φ_{qp} y $\Phi_{NPQFast}$ en función de la interacción ambiente lumínico-luz de excitación del PSII	28
7. Grafos de correlación entre subparámetros de partición de energía para cada genotipo según ambiente lumínico	29

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la producción forestal representa uno de los principales rubros agropecuarios en el Uruguay, por lo cual representa un 0.5% del PBI nacional (Uruguay XXI, 2021). Este rubro en Uruguay data desde principios de siglo XX, aun que el crecimiento en las plantaciones se ha dado posterior a la primera y especialmente a la segunda ley forestal. Las plantaciones forestales ocupaban algo más de un millón de hectáreas al año 2018, y están representadas por *Eucalyptus* con 594.750 hectáreas efectivas y *Pinus* 183.809 hectáreas efectivas. *Eucalyptus grandis* es una de las especies más utilizadas en Uruguay, especialmente en la zona Norte con destino principal a la producción de madera sólida para aserrado y debobinado (MGAP. OPYPA, 2019).

En la producción forestal de Uruguay las nuevas plantas son desarrolladas a partir de plantines en viveros especializados. Durante este periodo se genera un equilibrio en las condiciones medioambientales y se busca que sean lo más próximas posible al óptimo para la especie. Estas condiciones son humedad, temperatura y luz. En cuanto a la luz dependiendo de cuan sofisticado sea el vivero pueden variarse sus propiedades, como la intensidad, la calidad y la duración del día (fotoperiodo). La etapa durante la cual el plantín se está desarrollando en el vivero es decisiva para la rentabilidad del monte forestal que se va a plantar en un futuro cercano.

En los viveros forestales se utilizan individuos mejorados genéticamente cuya finalidad es la mejor adaptación a las futuras condiciones de sitio. Con el objetivo de que se mantengan las características genéticas del mejoramiento, en especial para *Eucalyptus* se utiliza propagación vegetativa (clonación reproductiva). Esto además permite obtener cierta uniformidad en las plantaciones. Se tienen en cuenta varios clones con el objetivo de conseguir adaptaciones a diferentes condiciones. Este tipo de reproducción no es el único utilizado, también se hace por semillas que presenta la ventaja importante de que se pueden utilizar materiales genéticos provenientes de otros países en grandes cantidades.

En cuanto a la investigación nacional se encuentra una debilidad importante relacionada a la falta de conocimiento sobre la adaptación de los plantines a las condiciones controladas en el vivero. Este trabajo está centrado en el estudio del efecto de la radiación lumínica tanto a diferentes intensidades de luz sobre un mismo clon como la posible respuesta diferencial que pueda presentarse entre clones. Para lograr obtener estos datos se debe estudiar el proceso de fotosíntesis ya que este es el primer proceso de conversión de energía.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Analizar la respuesta a nivel fotosintético de diferentes clones de *Eucalyptus grandis* sometidos a cambios en la radiación lumínica incidente.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar los mecanismos de partición de energía del fotosistema II (PSII) en respuesta a la radiación lumínica en *Eucalyptus grandis*.
- Conocer cómo el ambiente lumínico durante el desarrollo foliar afecta los procesos de partición de energía en el PSII en *Eucalyptus grandis*.
- Identificar si existe respuesta diferencial de los clones de *Eucalyptus grandis* en los procesos de partición de energía del PSII.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. GÉNERO EUCALYPTUS

El género *Eucalyptus* pertenece a la familia de las Mirtáceas, subfamilia Leptospermoidea, la gran mayoría de sus especies se encuentran en el territorio australiano el cual es el centro de origen del mismo. Las especies del género son más de 500 y se encuentran dispersas en gran parte de Australia, esto genera que dichas especies deban presentar diferentes adaptaciones según su ubicación, algunas son más sensibles al sitio y otras presentan mayor plasticidad por lo tanto mayor capacidad de adaptación. Esta capacidad adaptativa a condiciones ambientales y edáficas define la localización de cada una de las especies, algunas de estas tienen ubicaciones muy acotadas y otras mucho más dispersas. Una característica a tener en cuenta de este género es la ausencia de yema apical definida y además el crecimiento indefinido regulado fundamentalmente por la temperatura ambiente (Brussa, 1994). Muchas de las especies pertenecientes al género *Eucalyptus* cuando son plantadas fuera de su hábitat natural han mostrado alto grado de tolerancia tanto a altitudes como a latitudes extremas (Granados-Sánchez y López, 2007).

Las especies que integran este género pueden ser árboles muy pequeños formando los conocidos “mallees” o árboles de gran porte de hasta 90 metros de altura (Granados-Sánchez y López, 2007). Los eucalyptus son especies perennes con una gran demanda en cuanto a la radiación, por lo que presentan requerimientos importantes de espacio para su desarrollo. Estos presentan hojas con texturas coriáceas con cutículas gruesas, en muchas ocasiones adoptan disposición colgante o péndula con el fin de limitar el calentamiento (Granados-Sánchez y López, 2007). Son consideradas especies intolerantes a la sombra, pero algunos estudios muestran adaptaciones a través de cambios en caracteres morfológicos y fisiológicos (Guarnaschelli et al., 2009).

La madera producida de las especies del género *Eucalyptus* pueden tener diversos destinos, como por ejemplo combustible, rollizo industrial, trozas para aserrío o pulpa, además de otros diversos fines menores (Martín, 2017).

2.1.1. *Eucalyptus grandis*

La especie *Eucalyptus grandis* se encuentra dispersa en el continente australiano, en áreas de la región Norte, centro y Este. En estas zonas antes mencionadas las condiciones de sitio pueden cambiar significativamente, de presentar zonas con muy bajas altitudes a nivel del mar y puede llegarse hasta los 600 metros. Las temperaturas promedio varían entre 24 y 30 grados, con baja incidencia de heladas. En cuanto al régimen de precipitaciones estas regiones son catalogadas como estivales con una media anual de entre 1000 y 3500

milímetros (Brussa, 1994). Esta especie se caracteriza por tener requerimientos lumínicos muy importantes.

Durante la etapa de germinación la dosificación de agua y luz se tornan de importancia decisiva. En cuanto a la necesidad lumínica de *E. grandis* estos presentan requerimientos de entre 1000 y 1500 horas de sol al año (Ospina et al., 2006).

2.2. AMBIENTE LUMÍNICO

La luz es la principal fuente de energía sobre la tierra y está compuesta por un conjunto de ondas electromagnéticas. El sol emite radiación de onda corta, con longitudes de onda entre 200 nm hasta 3000 nm, desde el ultravioleta, pasando por el visible hasta el infrarrojo cercano. Las diferentes longitudes de onda visibles se corresponden a diferentes colores, los más cortos al violeta (420 nm), pasando por el azul, verde, amarillo y naranja hasta llegar al rojo (700 nm, IDEAM, 2014). La radiación fotosintéticamente activa (PAR) abarca longitudes de onda que van desde los 400 a 700 nanómetros (nm), este espectro coincide con la luz visible (De Las Rivas, 2008a).

El ambiente lumínico puede ser definido a partir de la cantidad de luz (flujo de fotones), la composición espectral o calidad de misma (longitud de onda), la dirección incidente y el fotoperiodo (duración del día, Bustos-Salazar, 2009). La calidad y cantidad de luz, afectan directamente a los procesos fotosintéticos en los vegetales (Quero et al., 2018).

La densidad de flujo de fotones (PPFD) es la cantidad de fotones que pasan por una unidad de área por una unidad de tiempo. Es decir, la cantidad de fotones que inciden y pueden ser captados por las hojas. En general las unidades de PPFD son $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Un exceso de cantidad de luz, es decir un PPFD superior al que tolera el organismo se pueden generar procesos de fotoinhibición.

La calidad de la luz se define en función de las longitudes de onda (Nobel, 2009). Como se mencionó anteriormente la luz blanca está constituida por un conjunto de radiaciones luminosas de varios colores como ser violeta, azul, verde, amarillo, naranja y rojo. Cuando la luz incide sobre un objeto este absorbe luz del color complementario al que emite. En la naturaleza se observa el claro ejemplo de las hojas, el color que muestran es verde por lo cual ese color está siendo muy poco absorbido (De Las Rivas, 2008a).

Por otra parte, la radiación que llega a la tierra puede llegar de manera directa o difusa. Cuando se refiere a la radiación directa, es la que proviene en línea recta desde el sol hasta la superficie terrestre sin haber sufrido variaciones en el camino. En tanto la radiación difusa también llega a la superficie de la tierra, pero luego de haber sufrido variaciones en el trayecto debido a la atmósfera. La luz directa más la luz difusa definen la radiación solar global que llega a la superficie terrestre (Izquierdo, 2010). La luz solar que llega a la superficie de la tierra se reduce drásticamente a causa de las reacciones que se dan en la atmósfera, en donde se produce dispersión y absorción. El vapor de agua y otras moléculas como dióxido de carbono absorben fuertemente las ondas pertenecientes a la región infrarroja, mientras que el ozono presenta importante absorción en la región ultravioleta. Esta última región del espectro es pequeña pero sus fotones poseen alto contenido de energía por lo que se torna muy dañina (Blankenship, 2014).

2.2.1 Respuestas de las plantas a la luz

En las plantas la luz puede generar varios efectos. La luz incidente puede ser utilizada como fuente de energía y desencadenar el proceso fotosintético y/o también puede ser fuente de información.

La luz tiene efectos tanto en la morfología como la fisiología foliar, además de ser una de los principales factores que afectan a la fotosíntesis. Las plantas generan adaptaciones dependiendo de la exposición a la luz que tengan, lo que hace que se puedan separar en plantas de sol (heliófilas) y de sombra (esciofitas). En el caso específico de los árboles ocurre la presencia de hojas de sol y de sombra dentro de una misma planta. Nombrando algunas diferencias es de relevancia comentar que las hojas de sombra presentan mayor superficie, menor número de células de mesófilo de empalizada, células más cortas y menor peso por unidad de área foliar, estos cambios producen que las hojas sean más delgadas. En cuanto al aparato fotosintético se presentan adaptaciones muy importantes cuya finalidad es la mayor captación y mayor aprovechamiento de la radiación lumínica incidente, en el caso de las adaptadas a condiciones de baja intensidad lumínica se desarrollan mayor número de granas por cloroplasto y además un mayor número de tilacoides apilados por grana, además de una mayor cantidad de pigmentos en las antenas fotosintéticas (De Las Rivas, 2008b).

2.3 FOTOSÍNTESIS

La fotosíntesis es un proceso biológico mediante el cual las plantas que contienen clorofila transforman dióxido de carbono en compuestos orgánicos en presencia de luz y agua a partir de sustancias inorgánicas. Este proceso genera

una conversión de energía lumínica en energía química. El paso posterior a este es la utilización de esta energía en las reacciones metabólicas que ocurren en el estroma del cloroplasto y en los tilacoides donde se genera NADPH y ATP (Blankenship, 2014). El proceso fotosintético se ve afectado por la disponibilidad de agua, intensidad de luz, temperatura entre otros factores con efectos menores. La luz es un factor limitante en la respuesta fotosintética de las plantas (Mejía et al., 2014).

El principal órgano en el cual se desarrolla la fotosíntesis en las plantas es en las hojas, órgano especializado en este proceso. La incidencia de la luz se da en mayor proporción en el haz de la hoja y menor en el envés, lo que lleva a una distribución diferencial de cloroplastos dentro de la hoja. En el haz se presenta una capa de mesófilo de empalizada el cual está compuesta por una alta densidad de cloroplastos, en tanto en el envés la composición predominante es mesófilo lagunar el cual presenta muchos espacios denominados cámaras subestomáticas que son de fundamental importancia para el intercambio gaseoso a través de los estomas (De Las Rivas, 2008b).

El tejido más activo fotosintéticamente es el mesófilo de las hojas. En los cloroplastos presentes en el mesófilo se encuentran los tilacoides que son las membranas fotosintéticas donde se encuentra toda la maquinaria necesaria para las primeras etapas de la fotosíntesis. El conjunto de tilacoides agrupados se denominan granas. En la membrana tilacoidal se encuentran las proteínas (ejemplo ATP sintasas) y pigmentos (clorofilas y carotenoides) que participan en el proceso fotoquímico. Los tilacoides contienen los complejos proteicos que llevan a cabo la transferencia de electrones y generan el gradiente de protones (Taiz et al., 2015).

2.3.1 Fotosíntesis oxigénica

El tipo de fotosíntesis que realizan las plantas vasculares se denomina fotosíntesis oxigénica, ya que se caracteriza por la formación de oxígeno como subproducto. El oxígeno que se libera en ese proceso es utilizado en gran proporción en la respiración. A continuación, se detalla la ecuación del proceso fotosintético. En ella se puede observar que además del oxígeno se genera un fotoasimilado (De Las Rivas, 2008b).



La fotosíntesis oxigénica se compone de cuatro etapas. En la primera de ellas se da la absorción de fotones, la segunda corresponde a la transferencia primaria de electrones al centro de reacción, la tercera es la estabilización de energía por procesos secundarios y la última es la síntesis y exportación de productos estables (Blankenship, 2014).

En la primera etapa se absorbe luz que produce una separación de cargas en el centro de reacción. Durante esta etapa, los pigmentos que actúan como antenas absorben los fotones de la luz incidente. Los procesos que ocurren durante esta etapa son puramente fotofísicos. En la segunda etapa se da la transmisión de energía hacia el centro de reacción. Los electrones pasan a una molécula aceptora y generan un par de protones. En esta etapa se transforma la energía de excitación electrónica en energía química redox. En la etapa tres ocurre la estabilización de energía. Los procesos que ocurren en la etapa dos y tres son procesos fotoquímicos. Finalmente, en la etapa cuatro se generan fotoasimilados a partir de la reducción de dióxido de carbono utilizando NADPH y ATP provenientes de los procesos fotoquímicos. En la etapa cuatro se dan los procesos bioquímicos de la fotosíntesis (Blankenship, 2014).

2.3.2 Procesos fotoquímicos

En la membrana tilacoidal existen dos complejos fotoquímicos denominados fotosistemas, fotosistema I (PSI) y fotosistema II (PSII), donde ocurren las reacciones iniciales de captura y almacenamiento de energía. Estos fotosistemas son diferentes física y químicamente, y están unidos funcionalmente por una cadena de transporte de electrones. Aparte de los fotosistemas, en la membrana tilacoidal existen otros complejos proteicos que participan en las reacciones fotoquímicas, estos son el complejo citocromo b6f y la ATP sintasa (Taiz et al., 2015). La transferencia de electrones en la membrana tilacoidal comienza en el PSII. Aquí se produce la oxidación del agua con la consecuente liberación de un electrón, un protón y una molécula de oxígeno. Esto genera un flujo de protones hacia el lumen tilacoidal y un flujo de electrones hacia el citocromo b6f y el PSI. En el PSI se produce la reducción del NADP a NADPH en el estroma del cloroplasto a través de la ferredoxina-NADP reductasa (FNR, Pérez-Urria, 2009). Por último, la formación de ATP es impulsada por el gradiente de potencial electroquímico. Este gradiente genera el pasaje de protones (H^+) de un lado a otro de la membrana a través de una ATP sintasa la cual genera ATP a partir de ADP y P (De Las Rivas, 2008b).

2.3.3 Procesos bioquímicos

Posteriormente a la generación de poder reductor y energía (NADPH y ATP) comienza la fase de fijación de CO_2 , en el estroma del cloroplasto luego del ingreso de CO_2 a través de los estomas. En esta etapa se da el ciclo de Calvin-Benson, en el cual se produce la conversión del CO_2 en glúcidos (Taiz et al., 2015).

El ciclo mencionado puede ser desglosado en tres fases, la primera de ellas es la carboxilación en la cual se da la unión del CO_2 a la ribulosa 1,5

bisfosfato (RuBP) por acción de una enzima que es la Rubisco (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa). El producto de la unión entre el CO₂ y la RuBP es un compuesto de seis carbonos que origina dos moléculas de tres carbonos (3-fosfoglicerato o PGA). La fase siguiente a la carboxilación es la reducción del PGA a triosafosfato utilizando NADPH y ATP. Por último, la fase de regeneración consta de la utilización de la triosafosfato para regenerar RuBP con gasto de ATP (Blankenship, 2014).

2.4 REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOQUÍMICA EN FUNCIÓN DE LA LUZ

Como se mencionó anteriormente la luz es captada por los pigmentos fotosintéticos, que en los fotosistemas conforman lo que se llama el complejo antena. Los principales pigmentos son clorofilas a y b, carotenoides, xantofilas. Estos captan fotones porque tienen electrones que se excitan fácilmente, la excitación consiste en la absorción de la energía de los fotones por parte de los electrones pasando de un estado basal a un estado excitado (Taiz et al., 2015). Las clorofilas son los pigmentos que intervienen en mayor proporción en el proceso de absorción y conversión de la energía lumínica, por su composición son capaces de absorber radiación de la zona del azul y del rojo. Los carotenoides tienen la función de protección del fotosistema a través de mecanismos de disipación y extinción de la energía, aunque también funcionan como antenas cuando la longitud de onda incidente está entre 450 y 500 nm correspondiente a los colores azul-verde (De Las Rivas, 2008b).

Las plantas generan adaptaciones dependiendo si fueron desarrolladas al sol o a la sombra. Presentando adaptaciones en respuesta a la calidad de la luz (longitud de ondas) como a la cantidad (flujo de fotones). La energía lumínica que llega a la superficie de las hojas puede seguir dos caminos, ser absorbida y dar comienzo al proceso fotosintético o ser disipada por conversión a otras formas de energía radiante no acumulables como fluorescencia o calor (Zavafer et al., 2015).

Cuando incide un flujo de fotones excesivos solo una pequeña proporción es utilizada efectivamente para el proceso fotosintético. Cuando el flujo de fotones es demasiado intenso genera efectos negativos en los fotosistemas que llevan a la fotoinhibición. Esta energía en exceso debe ser disipada, por un proceso de extinción no fotoquímica, para evitar daño que pueda llevar a una disminución en la tasa fotosintética. Esta disipación en forma de calor constituye la primera línea de defensa de los fotosistemas. Este proceso puede monitorearse fácilmente a través de emisión de fluorescencia del PSII (Baker 2008, Blankenship 2014, Lazár 2015)

En los casos en los cuales los procesos disipativos no son suficientes para amortiguar el exceso de energía se van a producir productos tóxicos como superóxido, peróxido de hidrógeno, entre otros. Estas especies reactivas del oxígeno (EROS) son eliminadas por el sistema antioxidante que constituye la segunda línea de defensa ante el exceso de energía. Si las EROS se acumulan por encima de un nivel crítico se producen daños en el centro de reacción del PSII particularmente en la proteína D1 la cual debe ser degradada y sintetizarse nuevamente (Taiz et al., 2015).

Estos ciclos de reparación del PSII también constituyen una forma de contrarrestar el efecto del exceso de luz. En los casos en los cuales la tasa de fotoinhibición supera a la de reparación se produce fotoinhibición neta. Una fotoinhibición severa puede disminuir el crecimiento y hasta causar la muerte de la planta (Zavafer et al., 2015).

2.5 FLUORESCENCIA DE LAS CLOROFILAS

En el momento que las clorofilas del complejo antena reciben luz se produce una modificación en su estructura y se vuelven inestables, por lo que deben darse procesos de desexcitación para retornar a su estado basal. Los procesos que se dan son la emisión de fluorescencia, disipación como calor, desplazamiento de un electrón del centro de reacción o transferencia de energía a otra molécula (Taiz et al., 2015). Los procesos que buscan que la molécula vuelva al estado basal ocurren simultáneamente por lo que el incremento en la eficiencia de uno resulta en la disminución del resto. Esto permite que a partir de la medición de la fluorescencia de las clorofilas se pueda obtener información de la eficiencia fotoquímica y de la disipación térmica que ocurre en el PSII una vez que la energía es absorbida (González et al., 2008). Es por esto que la medición de la fluorescencia de las clorofilas (Chl) de los complejos antenas es una herramienta muy importante para indicar el funcionamiento de los fotosistemas y por tanto del proceso fotosintético (De Las Rivas, 2008b).

El PSII muestra un fenómeno conocido como fluorescencia variable, en este a través de estudios de la intensidad de fluorescencia se brinda información sobre las propiedades del complejo del centro de reacción y la cadena de transporte de electrones (Blankenship, 2014). Cuando la luz incide una proporción de esta es utilizada efectivamente para fotoquímica, otra se emite como fluorescencia, otra calor no regulado y/o como calor regulado (Lazár, 2015).

2.5.1 Técnica de medición

En este trabajo la cuantificación de la fluorescencia se hizo a partir de una técnica denominada pulso de amplitud modulada (PAM). La medición de la fluorescencia de Chl a través de esta técnica se logra a partir de la utilización de dos tipos de luces, una de ellas impulsa a la fotosíntesis y la otra excita a las Chl y mide la fluorescencia (Kalaji et al., 2014). La luz que impulsa la fotosíntesis puede ser continua, pulsos cortos de saturación o iluminación con rojo lejano continuo que oxida la cadena de transporte de electrones. La luz que induce la fluorescencia de las Chl son pulsos muy cortos y la intensidad de fluorescencia es directamente proporcional al rendimiento cuántico en un tiempo dado (Lazár, 2015).

Utilizando la técnica PAM se puede medir la caída de energía durante la desexcitación de las clorofilas del PSII. Este decaimiento puede ser medido tanto en oscuridad como en luz. Con esta técnica se puede estimar el rendimiento cuántico del PSII en una hoja adaptada a luz (análisis de extinción o “quenching”) o durante el proceso de relajación de PSII que ocurre en oscuridad luego de un periodo de luz (Baker 2008, Quero et al. 2018).

El análisis de fluorescencia de Chl se realiza en una hoja adaptada a la oscuridad la cual se la ilumina con luz débil para medir fluorescencia mínima o basal (F_o). La aplicación de pulsos de saturación da una fluorescencia de nivel máximo en la oscuridad denominada F_m . Luego se activa una luz actínica fuerte que produce fotosíntesis hasta que la fluorescencia se estabilice en un nivel llamado F_t . En estas condiciones de las plantas adaptadas a luz se dan pulsos de saturación que determinan el máximo de fluorescencia en la luz (F'_m). Luego se apaga la luz actínica reflejando los valores correspondientes a la fluorescencia mínima luego de un periodo de luz (F'_o). Cuando se apaga la luz actínica se produce re-oxidación parcial de la cadena de transporte de electrones. El aumento desde F_t a F'_m se produce por un cambio en el estado redox de la cadena de transporte de electrones. La diferencia entre F'_m y F_m es la medida del cambio en el rendimiento de la fluorescencia que en el caso del quenching no fotoquímico dependiente de la energía se asocia a cambios por mayor disipación de calor. El análisis de relajación se da luego de un periodo de luz y se realiza en oscuridad. Durante la relajación se aplican ciclos de pulsos de luz saturante para cuantificar cambios en la fluorescencia máxima (F''_m , Kalaji et al., 2014).

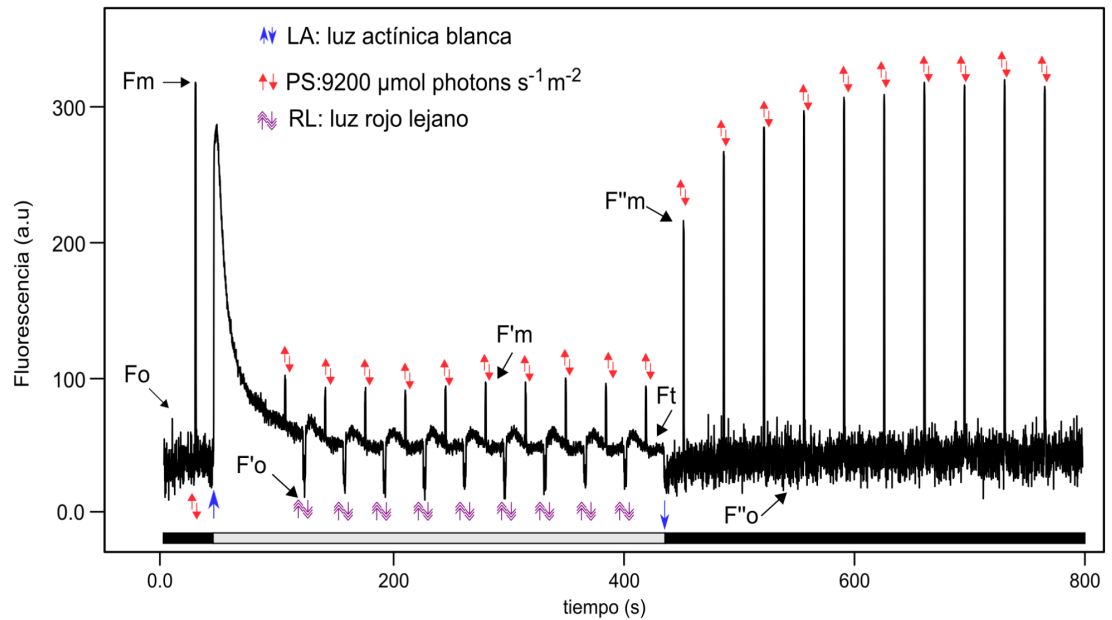


Figura 1. Ejemplo de firma de fluorescencia para análisis de quenching y de relajación con fluorómetro PAM

Fuente: adaptado de Quero et al. (2018).

2.5.2 Partición de energía

A partir de la medición de la fluorescencia se pueden cuantificar los procesos hacia los cuales va destinada la energía que llega al PSII. Esto se conoce como partición de energía y se cuantifica a partir de los parámetros de rendimiento cuántico. Los parámetros de rendimiento cuántico permiten discriminar la energía que va hacia procesos fotoquímicos frente a la que se disipa en forma de calor. La ventaja de la evaluación del rendimiento cuántico es que los rendimientos corresponden a fracciones de uso de la energía incidente por lo que pueden ser comparados directamente (Lazár, 2015).

Los rendimientos cuánticos del proceso de excitación pueden ser separados en tres, rendimiento cuántico del fotosistema dos (Φ_{PSII}), disipación no basal (Φ_{NPQ}) y disipación basal (Φ_{NO}). Mediante la estrategia de combinar análisis de quenching con análisis de relajación posterior se pueden obtener subparámetros que definen los tres rendimientos cuánticos antes definidos. El Φ_{PSII} está relacionado de manera directa con la tasa de transferencia de electrones en PSII hacia procesos bioquímicos, este queda definido por el rendimiento cuántico debido a la proporción de centros abiertos del PSII (Φ_{qp} ,

Maxwell y Johnson 2000, Lázár 2015) y por el rendimiento potencial de dichos centros de reacción (Φ_{qs} , Demmig-Adams et al. 1996, Kato et al. 2003). El Φ_{NPQ} está relacionado con los procesos no basales de disipación térmica de la energía. A su vez, el Φ_{NPQ} queda definido por el $\Phi_{NPQfast}$ y el $\Phi_{NPQslow}$ (Kasajima et al., 2009). El $\Phi_{NPQfast}$ corresponde al rendimiento cuántico de los procesos disipativos rápidos los cuales están relacionados directamente con la disipación de energía regulada en el PSII mientras que el $\Phi_{NPQslow}$ se corresponde con procesos disipativos no basales relacionados con el daño del PSII causado por la fotoinhibición (Kasajima et al. 2009, Quero et al. 2018).

Por otra parte, el Φ_{NO} que resume a los procesos disipativos basales queda definido por la energía disipada en forma de calor por los centros inactivos del PSII ($\Phi_{NObasal}$, Hikosaka, 2004) y por la disipación térmica basal del PSII adaptado a la luz (Φ_{NOPSII}). Un aspecto muy importante a tener en cuenta en el estudio de la partición de energía mediante la cuantificación del rendimiento cuántico, es que la suma de los rendimientos es igual a 1, esto permite comparar de manera directa el destino de la energía que llega al PSII (Lázár 2015, Quero et al. 2018).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

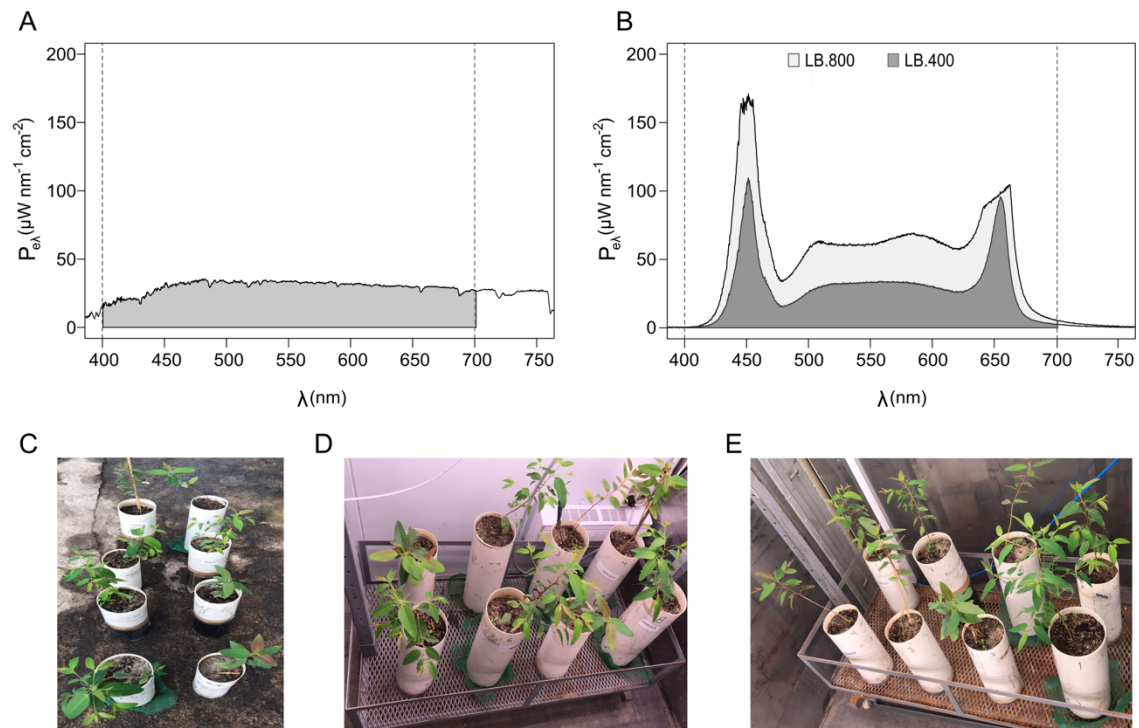
3.1 MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

El ensayo comenzó el 23 de agosto de 2021 con 100 plantas con 1 mes de edad, generadas mediante esquejes, de dos diferentes clones de *Eucalyptus grandis* (HHK1C3 y HHK2C5). Posteriormente el 20 de septiembre de 2021 se realizó una selección de los mejores 12 individuos de cada clon y se distribuyeron en tres ambientes diferentes con cuatro plantas de cada clon en cada uno. La distribución de los materiales en cada uno de los ambientes fue realizada aleatoriamente en la disposición que se observa en la Fig 1. El ensayo se realizó en el invernáculo y en la cámara de crecimiento del Departamento de Biología Vegetal de Facultad de Agronomía donde se utilizaron 12 plantas por clon, cedidas por la empresa forestal Lumin. Las plantas se colocaron en macetas creadas a partir de tubos de 15 L de capacidad con una rejilla en su base cuya finalidad es el filtrado del agua de riego. El sustrato estaba compuesto de una mezcla de arena y tierra en una proporción de 1:1. El riego se realizó con una frecuencia de cuatro veces a la semana para mantener condiciones hídricas óptimas. Pasados los 20 días (10 de octubre del 2021) los plantines correspondientes fueron trasladados a las cámaras de crecimiento para los tratamientos de luz (ver próximo párrafo) para ese entonces los plantines promediaban una edad de dos meses y medio con una altura de 30 cm promedio. Las plantas crecieron en un ambiente con 25°C, 50-60% de HR y un ciclo 12/12 horas de oscuridad/luz.

3.2 TRATAMIENTO DE LUZ

Se establecieron tres diferentes ambientes lumínicos diferenciados por la calidad espectral y el flujo lumínico. El ambiente 1 (invernáculo) está definido por la luz natural del invernáculo. El ambiente 2 (LB.400) está definido por la calidad espectral entre 400-700 nm con el mismo flujo lumínico del invernáculo ($400 \mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Y el ambiente 3 (LB.800), definido por la misma calidad espectral que el ambiente 2 pero con un flujo lumínico de $800 \mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Estos ambientes lumínicos se generaron en cámaras de crecimiento cuyo sistema de iluminación está basado en lámparas de fuente LED. Como se mencionó en el párrafo anterior todas las plantas crecieron en condiciones de invernáculo durante 20 días, luego de ese período las plantas (de los ambientes LB.400 y LB.800) fueron trasladadas a los diferentes ambientes lumínicos en los

cuales se desarrolló la hoja donde se realizaron las mediciones de partición de energía. El espectro y la intensidad de los diferentes tratamientos de luz se midieron utilizando un espectrorradiómetro (espectrómetro USB2000 +, Ocean Optics, Duiven, The Netherlands) que se calibró frente a una fuente de luz estándar suministrada por el equipo. El sensor del espectrorradiómetro se ubicó donde estaba la hoja más cercana a los 30 cm del centro de la fuente de luz.



A) Flujo de energía espectral del ambiente invernáculo. B) Flujo de energía espectral de los ambientes lumínicos LB. 800 y LB. 400 emitidos por un sistema de luz, basado en una fuente de luces LED. C) Distribución de los clones HHK1C3 y HHK2C5 en el invernáculo. D) y E) Distribución de los clones en cámaras de crecimiento.

Figura 2. Ambiente lumínico: densidad de flujo de fotones y calidad espectral. Y fotos de la distribución de los plantines en invernáculo y cámaras de crecimiento

3.3 PARÁMETROS DE RENDIMIENTO CUÁNTICO

Para cuantificar la partición de energía en el PSII a través de los parámetros de rendimiento cuántico, se utilizó un fluorómetro de pulso de amplitud modulada (FMS1, Hansatech, King 's Lynn, UK). Para la estimación de los parámetros se definieron 4 niveles de luz actínica para la excitación del PSII: 200, 400, 850 y 1700 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Los parámetros de rendimiento cuántico se definieron de la siguiente manera:

$$\phi_{PSII} = \frac{F_m' - F_t}{F_m'} = \underbrace{\left(\frac{F_m' - F_t}{F_m' - F_0'} \right)}_{q_P} \underbrace{\left(\frac{F_m' - F_0'}{F_m'} \right)}_{q_S}$$

$$\phi_{NO} = \frac{F_t}{F_m} = \frac{F_t - F_0' + F_0'}{F_m} = \underbrace{\frac{F_t - F_0'}{F_m}}_{\phi_{NOpsII}} + \underbrace{\frac{F_0'}{F_m}}_{\phi_{NObasal}}$$

$$\begin{aligned} \phi_{NPQ} &= \frac{F_t}{F_m'} \left(\frac{F_m - F_m'}{F_m} \right) = F_t \left(\frac{F_m}{F_m' F_m} - \frac{F_m'}{F_m' F_m} \right) = F_t \left(\frac{1}{F_m'} - \frac{1}{F_m} \right) \\ &= F_t \left(\frac{1}{F_m'} - \underbrace{\frac{1}{F_m''} + \frac{1}{F_m''}}_{=0} - \frac{1}{F_m} \right) = F_t \underbrace{\left(\frac{1}{F_m'} - \frac{1}{F_m''} \right)}_{\phi_{NPQfast}} + F_t \underbrace{\left(\frac{1}{F_m''} - \frac{1}{F_m} \right)}_{\phi_{NPQslow}} = \phi_{NPQfast} + \phi_{NPQslow} \end{aligned}$$

Las mediciones se realizaron en hojas completamente expandidas desarrolladas en el ambiente de crecimiento dentro del cual se realizó la medición. Cada hoja fue evaluada en los 4 niveles de luz actínica. La fluorescencia fue medida en las mismas condiciones en las que se desarrollaron las plantas sin período de adaptación a oscuridad. Las hojas seleccionadas se encontraban en buen estado sanitario y sin síntomas de ataque de posibles patógenos.

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El experimento fue instalado bajo un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento. El tratamiento queda definido por la

interacción entre los niveles del factor genotipo (HHK1C3 y HHK2C5), los niveles del factor ambiente lumínico (invernáculo, intensidad media e intensidad alta) y nivel de luz actínica.

Para el análisis estadístico se usó un modelo lineal general con arreglo factorial. Luego de la verificación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer si hubo efecto significativo de alguno de los factores. Luego se realizó un análisis de contrastes para establecer diferencias entre las medias de los tratamientos identificados como significativos por el ANOVA. El análisis estadístico se realizó con el software libre R (R Core Team, 2017). Los contrastes ortogonales se realizaron con el paquete de R *emmeans* (Russell, 2018).

El modelo lineal general fue el siguiente:

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

Donde,

AL_i es el efecto del i-ésimo ambiente lumínico (invernáculo, intensidad media e intensidad alta). LA_j es el efecto del j-ésimo nivel de actínica (200, 400, 850 y 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$). G_k es el efecto del k-ésimo nivel de genotipo (HHK1C3, HHK2C5). $(AL * LA)_{ij}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de AL y el j-ésimo nivel de LA $(AL * G)_{ik}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de AL y el k-ésimo nivel de G $(LA * G)_{jk}$ es la interacción entre el j-ésimo nivel de LA y el k-ésimo nivel de G $(AL * LA * G)_{ijk}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de AL, el j-ésimo nivel de LA y el k-ésimo nivel de G. $Error_{ijk}$ es el error asociado a cada unidad experimental.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS DE PARTICIÓN DE ENERGÍA

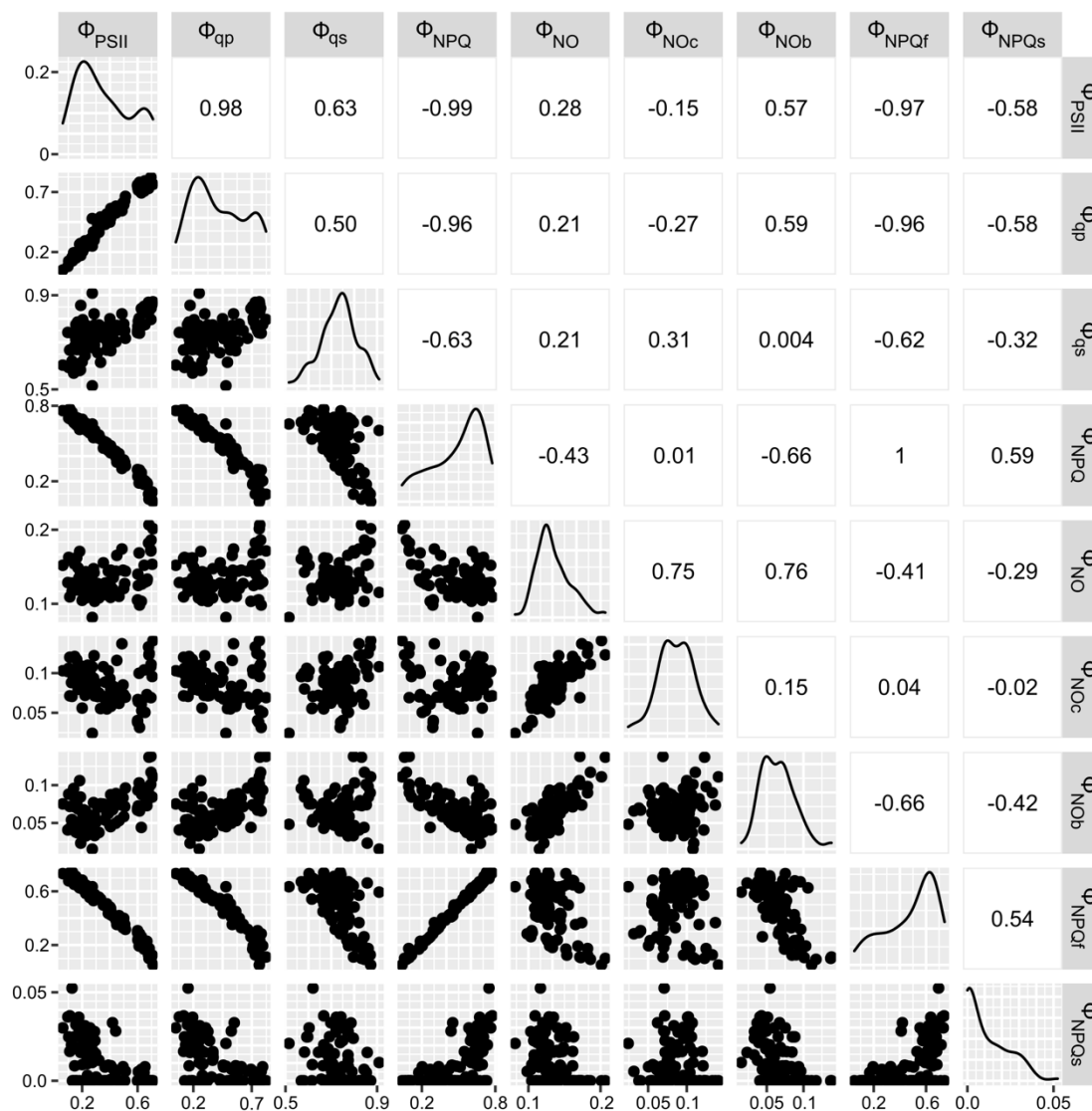


Figura 3. Correlaciones entre los parámetros y subparámetros de partición de energía del PSII

En la Figura 3 se muestran las correlaciones existentes entre los parámetros de partición de energía obtenidos a partir de las mediciones de

fluorescencia. Las fórmulas para obtener los parámetros de partición de energía se pueden ver en la sección 3.3.

Los parámetros principales a evaluar son Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO} . Observando la correlación entre Φ_{PSII} y Φ_{NPQ} en el caso de estos dos parámetros la correlación observada es alta y negativa ($R^2 = -0,986$), por lo que al darse aumento en uno de ellos produce la disminución del otro. Se puede decir que al disminuir el rendimiento cuántico del PSII, cuantificado a través de parámetro Φ_{PSII} , aumenta la disipación térmica no basal, cuantificada mediante el Φ_{NPQ} . Por tanto, la energía que no es utilizada en el proceso fotoquímico se disipa de manera no basal. El parámetro Φ_{NO} muestra una correlación muy baja con Φ_{PSII} ($R^2 = 0,277$, demostrando que los valores tienen una baja correlación) es decir que el rendimiento cuántico del PSII no está relacionado con la disipación térmica basal. Los datos de correlaciones obtenidos entre los tres parámetros principales de partición de energía coinciden con los resultados obtenidos por Níón (2018), Piazza (2021), para *Eucalyptus sp.*

En cuanto a la correlación observada entre Φ_{PSII} y Φ_{qp} esta es positiva y con un valor alto ($R^2 = 0,985$). A partir de esto se obtiene como significado que al darse un aumento en uno de estos dos parámetros el otro aumenta de manera casi lineal. En este caso puede decirse que el aumentar la proporción de centros abiertos del PSII se da un aumento en el rendimiento cuántico del PSII.

El parámetro Φ_{PSII} queda definido por el producto entre Φ_{qp} (proporción de los centros abiertos del PSII) y Φ_{qs} (rendimiento potencial de dichos centros de reacción). Gracias a esta información y a las correlaciones observadas puede decirse que Φ_{PSII} depende en mayor medida de la proporción de centros de reacción abiertos y no tanto del rendimiento potencial de estos, ya que el rendimiento potencial de los centros de reacción muestra una menor correlación con Φ_{PSII} ($R^2 = 0,629$).

En cuanto a los componentes del Φ_{NPQ} se observó que hay una alta correlación positiva entre Φ_{NPQ} y $\Phi_{NPQfast}$ ($R^2 = 1$), llevando a que los aumentos en el $\Phi_{NPQfast}$ son los encargados de aumentar Φ_{NPQ} . Cuando se observa la relación entre el Φ_{NPQ} y el $\Phi_{NPQslow}$ se ve que esta es menor ($R^2 = 0,591$) a la que existe entre el Φ_{NPQ} y $\Phi_{NPQfast}$. Por tanto, se puede decir que el Φ_{NPQ} es dependiente de la disipación de energía regulada de PSII.

Por otra parte, se observó que el $\Phi_{NPQfast}$ presenta una alta correlación negativa con el Φ_{PSII} ($R^2 = -0,986$) por lo que una disminución en Φ_{PSII} produce un aumento en $\Phi_{NPQfast}$. El sub parámetro $\Phi_{NPQfast}$ es el componente del Φ_{NPQ} que se asocia con procesos de regulación, no de daño. Por tanto, se puede decir que la energía excede se esta disipando de manera regulada ya que disminuye Φ_{PSII} y aumenta $\Phi_{NPQfast}$. Además, a medida que los centros de reacción se cierran, es

decir disminuye Φ_{qp} , aumenta el calor disipado de manera regulada es decir aumenta $\Phi_{NPQfast}$. Entre el parámetro Φ_{qp} y el subparámetro $\Phi_{NPQfast}$ se observa una correlación alta y negativa ($R^2 = -0,963$).

Pasando finalmente al Φ_{NO} , este está compuesto por $\Phi_{NObasal}$ y Φ_{NOPSII} , en este caso ambos componentes presentan correlaciones muy similares ($R^2 = 0,75$ y $R^2 = 0,76$ respectivamente) lo que lleva a decir que Φ_{NO} está influenciado en la misma proporción por los dos parámetros. En contraposición a lo reportado por Piazza (2021), en el cual demostró que el parámetro Φ_{NO} estaba influenciado principalmente por el sub parámetro Φ_{NOPSII} . No se observaron correlaciones entre el Φ_{NO} , y ni ninguno de sus subparámetros, ni con el Φ_{PSII} ni con el Φ_{NPQ} .

4.2 EFECTO DE LAS FUENTES DE VARIACIÓN SOBRE LA PARTICIÓN DE ENERGÍA DEL PSII

Como forma de establecer los efectos de las fuentes de variación del experimento se realizan los análisis de varianza (ANOVA). A los resultados de los análisis de varianza se los puede dividir en dos, en primera instancia los parámetros de partición de energía que afectan el rendimiento cuántico de los procesos fotoquímicos, estos son el Φ_{PSII} y Φ_{qp} .

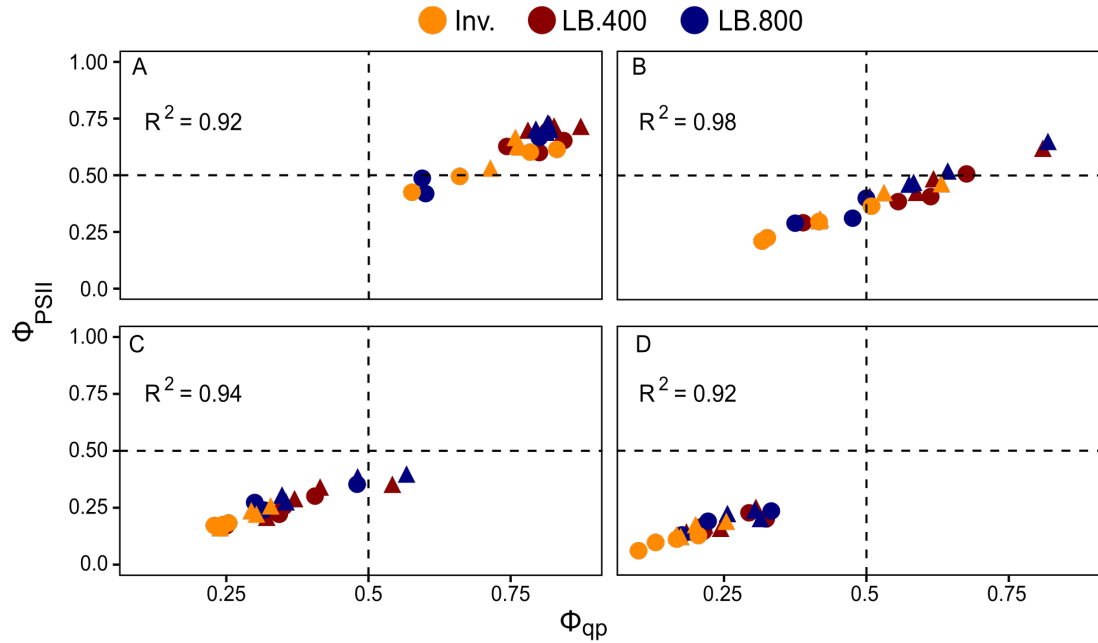
En el caso particular de Φ_{PSII} se observan efectos significativos ($P \text{ value} < 0,05$) respecto a las fuentes de variación por separado, pero si se quiere observar efectos de interacción solamente en el caso de protocolo vs genotipo ($LA*G$) se denota una posible interacción, aunque no significativa (0,0549), este es un resultado que coincide con lo presentado por Piazza (2021), en cambio el resultado que se presenta a continuación muestra discrepancias. En este caso el parámetro mencionado Φ_{qp} muestra efectos principales significativos, tanto de ambiente, de protocolo como de genotipo, pero no muestra interacciones entre las fuentes de variación.

Para el parámetro Φ_{NPQ} y el sub parámetro $\Phi_{NPQfast}$ se muestran al igual que en los parámetros anteriores valores significativos para las fuentes de variación de manera individual, pero cuando se pasa a ver las interacciones entre las fuentes de variación hay algunos resultados que se detallan a continuación. Para el caso del parámetro Φ_{NPQ} se observan valores significativos para la interacción entre el protocolo de luz actínica y el genotipo ($LA*G$). En tanto para el sub parámetro $\Phi_{NPQfast}$ además de presentarse una interacción entre las mismas fuentes de variación se agrega la significancia en la interacción entre el ambiente lumínico y el genotipo ($AL*G$).

A diferencia de lo reportado por Piazza (2021) en los resultados que se obtuvieron en este experimento, se denota que en todas las fuentes de variación los resultados fueron significativos por individual. En los resultados de Piazza (2021) no se observa significancia en los casos del genotipo de manera individual en ninguno de los cuatro parámetros. Por otra parte, se muestra otra diferencia tanto para Φ_{NPQ} como para $\Phi_{NPQFast}$. Piazza (2021) reporta dos interacciones significativas, entre protocolo de luz actínica y ambiente lumínico (LA*AL) y entre ambiente lumínico y genotipo (AL*G) lo que difiere con lo presentado en el párrafo anterior. Las tablas de ANOVA completas pueden verse en el Anexo.

4.2.1 Interacción entre el ambiente lumínico de desarrollo de la hoja y la intensidad de excitación del PSII

Se realiza el análisis de las correlaciones entre los parámetros teniendo en cuenta las interacciones entre el protocolo de luz actínica, el ambiente lumínico de desarrollo y además se tiene en cuenta también los dos genotipos estudiados, esto se realiza en las tres figuras a presentar a continuación. En la primera de ellas el estudio se centra en el análisis de las correlaciones entre Φ_{PSII} y Φ_{PQ} . Se observa que a medida que aumenta la intensidad de la luz actínica los centros de reacción se van cerrando lo que lleva a una disminución del Φ_{PSII} . En el protocolo de luz actínica de 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se observan la mayoría de los datos por encima del 50% y bastante agrupados, en cambio a medida que se fueron corriendo los diferentes protocolos eso fue cambiando, para el caso de 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estos mantienen la pendiente, pero se da mayor dispersión de los datos y podría observarse alguna diferencia entre los genotipos, el HHK1C3 tiende a quedar en valores de Φ_{PSII} más altos que el HHK2C5. Continuando con el protocolo a 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ comienzan a agruparse en mayor medida manteniendo la tendencia de los genotipos, y finalmente en el 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se agrupan mucho más en valores inferiores a 25% y se torna difícil observar diferencias entre los genotipos. Referenciando la información presentada por Piazza (2021) hay diferencias notables en los protocolos de alta intensidad, este reportaba que a causa del daño sufrido por la alta intensidad de luz actínica no fueron incluidas en el ensayo, en cambio en este caso no fue reportado ese daño.

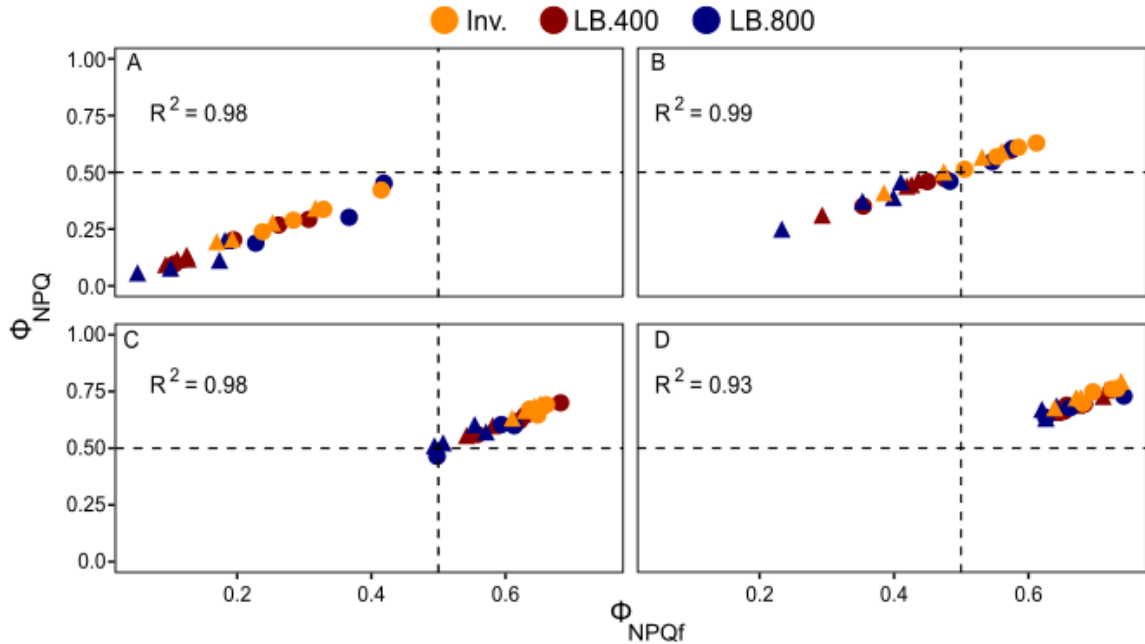


200- Actínica 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 400- Actínica 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 850- Actínica 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 1700- Actínica 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Figura 4. Correlación entre los parámetros Φ_{PSII} y Φ_{qp} en función de la interacción ambiente lumínico-luz de excitación del PSII

En la Figura 5, se observan los resultados de la correlación entre los parámetros Φ_{NPQ} y $\Phi_{\text{NPQ Fast}}$ con las correspondientes interacciones entre los ambientes lumínicos, protocolos de luz actínica aplicados y los dos genotipos. En primera instancia se puede ver que ante aumentos en la luz actínica se va produciendo que la dispersión de los parámetros sea cada vez menor, llegando al protocolo de 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el cual muestra los valores muy agrupados. A 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ la totalidad de los valores se encuentran por debajo del 50% para los dos parámetros Φ_{NPQ} y $\Phi_{\text{NPQ Fast}}$. Se puede deducir que hay poca disipación térmica por tanto el $\Phi_{\text{NPQ Fast}}$ es bajo y los datos se encuentran más dispersos. Con el aumento de la intensidad de luz actínica se comienza a dar un desplazamiento de los valores hacia la derecha y hacia arriba, manteniendo la pendiente, en 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ya se encuentran casi todos por encima de el 50% de ambos parámetros y en el caso de 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ya superan claramente ese valor además se muestran muy agrupados. En cuanto a las diferencias observadas para los genotipos, estos pueden ser diferenciados en los protocolos de baja y media intensidad de luz actínica mostrando el genotipo HHK1C3 con valores más cercanos a cero y el HHK2C5 con valores cercanos a 50% en el protocolo de 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

¹ y hasta superando ese valor en el protocolo de media intensidad (400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$).



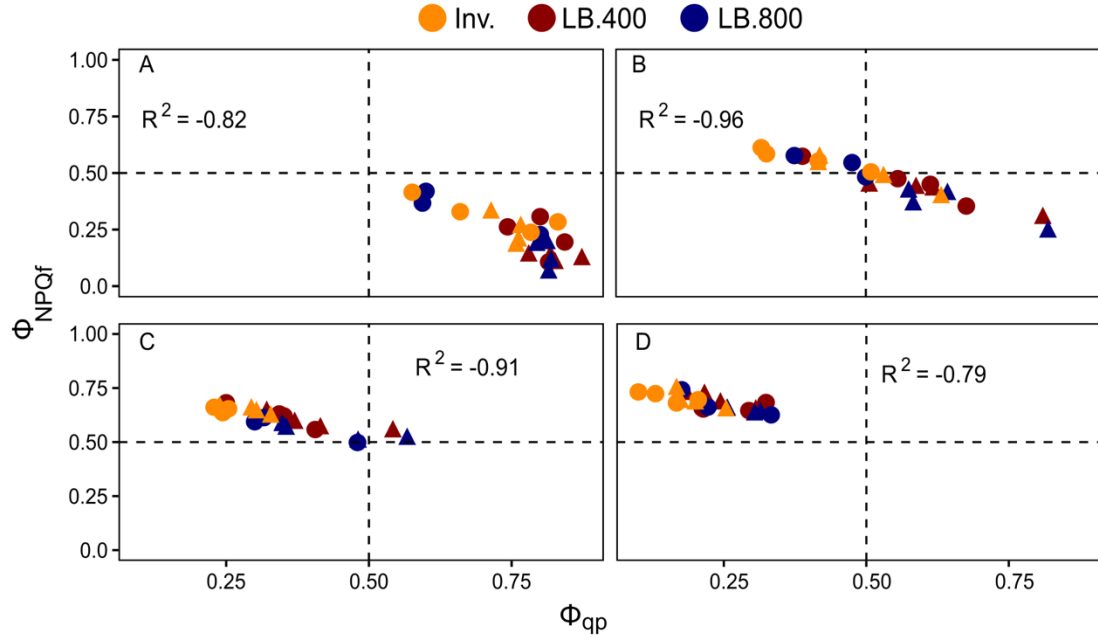
200- Actínica 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 400- Actínica 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 850- Actínica 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 1700- Actínica 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Figura 5. Correlación entre los parámetros Φ_{NPQ} y Φ_{NPQFast} en función de la interacción ambiente lumínico-luz de excitación del PSII

La Figura 6 está representando la correlación entre $\Phi_{\text{NPQ Fast}}$ y Φ_{qp} , con los diferentes factores de variación ya mencionados. En este caso la correlación es negativa por lo que el desplazamiento de los valores se da desde el cuadrante de la derecha abajo manteniendo la pendiente hacia el de la izquierda arriba con el aumento de la intensidad de luz actínica de cada protocolo. Este gráfico permite observar una respuesta diferente a los anteriores, en este caso se observa que a bajas intensidades de luz actínica los valores están menos dispersos que a intensidades medias y altas como el caso de 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, lo que sí se mantiene es que a intensidades de luz actínica muy altas la dispersión es muy baja.

Pasando a los valores el conjunto de los datos a 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se encuentra por debajo de 50% para $\Phi_{\text{NPQ Fast}}$ y por encima para Φ_{qp} , en este caso se ve que no hay casi disipación térmica regulada. Por el desplazamiento ya mencionado a 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ los puntos se encuentran entre 25% y 75% (con mayor dispersión) para ambos parámetros y finalmente a 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estos pasan a estar entorno a 75% de $\Phi_{\text{NPQ Fast}}$ y 25% de Φ_{qp} . Este

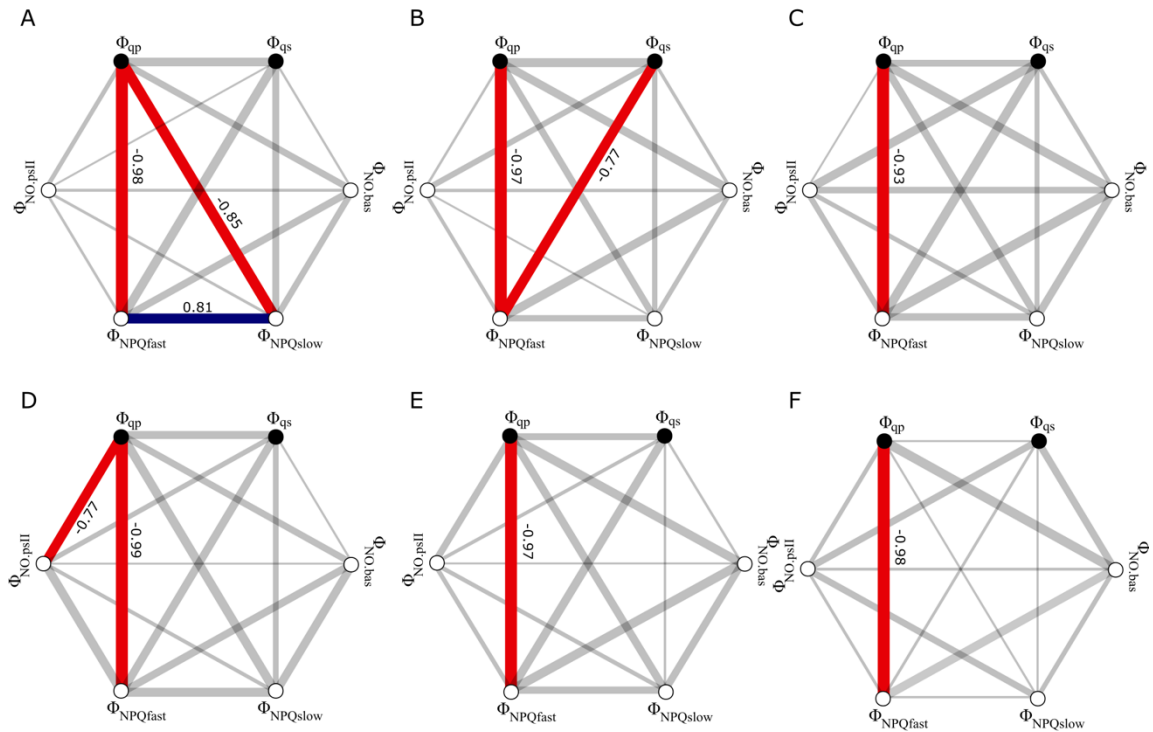
proceso se va dando ya que se van cerrando los centros de reacción. Sí quiero buscar variabilidad en esta correlación debo buscarla a una actínica media que es donde se muestra la mayor dispersión. A altos niveles de radiación la mayoría de la energía se disipa en forma de calor, pero la forma de disipación de este es regulada, lo que lleva a que la planta está pudiendo manejar más del 50% de la energía que queda en exceso.



200- Actínica 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 400- Actínica 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 850- Actínica 850 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 1700- Actínica 1700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Figura 6. Correlación entre los parámetros $\Phi_{NPQFast}$ y Φ_{qp} en función de la interacción ambiente lumínico-luz de excitación del PSII

4.2.2 Efecto del ambiente lumínico de desarrollo de la hoja sobre la partición de energía del PSII en los distintos genotipos de *Eucalyptus grandis*



A) Grafos HHK1C3 ambiente lumínico invernáculo. B) Grafos HHK1C3 ambiente lumínico 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. C) Grafos HHK1C3 ambiente lumínico 800 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. D) Grafos HHK1C5 ambiente lumínico invernáculo. E) Grafos HHK1C5 ambiente lumínico 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. F) Grafos HHK1C5 ambiente lumínico 800 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Figura 7. Grafos de correlación entre sub parámetros de partición de energía para cada genotipo según ambiente lumínico

En la Figura 7 se muestra una representación de los resultados obtenidos para las correlaciones entre los dos genotipos en estudio y el ambiente lumínico en el cual se desarrollaron (G*AL). Estos resultados están mostrando cómo se dan los procesos de partición de energía.

Como norma general se observa que para los dos genotipos en los tres ambientes de estudio la única correlación que se mantiene siempre con valores significativos (>0.75) es entre Φ_{qp} y $\Phi_{NPQ fast}$. Esta presenta valores cercanos a uno y negativos, indicando que a medida que los centros de reacción abiertos disminuyen, el rendimiento cuántico de enfriamiento rápido no fotoquímico de relajación rápida aumenta (disipación regulada de psii). El resultado que se menciona es esperado y además coincide con lo reportado por Piazza (2021).

Por otra parte, pasando a las comparaciones entre los dos genotipos en un mismo ambiente se comienza por el ambiente invernáculo. En este caso para el genotipo HHK1C3 se observan valores significativos de correlación negativa entre Φ_{qp} y $\Phi_{NPQslow}$ esto demuestra que a medida que disminuyen los centros de reacción abiertos se da un aumento en el rendimiento cuántico de enfriamiento lento no fotoquímico el cual se relaciona con el daño del PSII causado por procesos de fotoinhibición. También se denotan valores correlacionados entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$ esta muestra resultados positivos, por lo que se puede decir que al darse un aumento en el rendimiento cuántico de enfriamiento rápido no fotoquímico de relajación rápida (disipación regulada de PSII) se da también aumento en el rendimiento cuántico de enfriamiento lento no fotoquímico de relajación que como ya se mencionó esta relacionado con el daño del PSII por fotoinhibición.

A medida que aumenta la disipación térmica regulada aumenta el daño. A medida que se cierran los centros de reacción se da un aumento en $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$ con predominancia del fast, lo que lleva a que sigue habiendo regulación, pero se esta generando daño.

En cambio, para el genotipo HHK2C5 la correlación reportada es entre Φ_{qp} y $\Phi_{no\ psii}$ con valores significativos negativos, demostrando que a medida que se cierran los centros de reacción la disipación térmica basal del PSII adaptado a luz comienza a aumentar.

El caso de el genotipo HHK2C5 aumenta la disipación basal, no así la estructural lo que difiere con lo presentado por Piazza (2021), el cual reporta relación con el componente estructural del PSII, esta diferencia podría deberse a diferencias en el ambiente lumínico de desarrollo (fecha de comienzo del experimento).

Comenzando a hacer referencia para el ambiente de 400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aparte de la correlación ya mencionada para todos se agrega para el caso del genotipo HHK1C3 una correlación significativa negativa entre $\Phi_{NPQfast}$ y Φ_{qs} demostrando que a medida que disminuye el rendimiento potencial de los centros de reacción se da un aumento en la disipación regulada del PSII. En cambio para el genotipo HHK2C5 la correlación significativa que se observa es la que se menciono como común para todos.

Finalmente describiendo los resultados observados para el ambiente de 800 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no se observan diferencias entre las correlaciones significativas, solamente se mantienen entre Φ_{qp} y $\Phi_{NPQfast}$.

4.3 PROPUESTAS

En base a los resultados que se obtienen en este trabajo se decide recomendar una serie de propuestas a partir de las cuales se podría continuar con la línea de investigación para aumentar el volumen de información y así poder entender mejor en conjunto el porqué de cada resultado y buscar la forma de hacer mejoras en cuanto a las características productivas, seleccionar genotipos con características superiores o realizar manejos en invernáculo para que los resultados productivos sean mejores.

Como propuesta inicial se sugiere la realización de evaluaciones de las respuestas de los clones de *Eucalyptus grandis* a diferentes longitudes de onda del espectro lumínico. De esta manera poder sumarlo a los resultados de este trabajo y poder tener más claro cuales son las condiciones en las cuales la planta se desarrollará de mejor manera.

A partir de este ensayo y de lo que se plantea en el párrafo anterior se podría evaluar cuales son los mecanismos que están implicados en los procesos de fotoprotección y además cuales son los de daño y cuales son los componentes de la cadena que se ven dañados.

Por otra parte, realizar estudios en clones con mayor incidencia en la producción nacional y también podría realizarse con otras variedades de *Eucalyptus* spp.

Evaluar resultados en cuanto a la combinación de ambientes lumínicos de invernáculo, pero con complementos de luces led, estos últimos tanto con diferentes intensidades de luz como longitudes de onda para que de esta manera obtener mejores resultados tanto en invernáculo como en su posterior traspaso al campo.

5. CONCLUSIONES

1. Los procesos de partición de energía en *Eucalyptus grandis* son dependientes del cada genotipo (HHK1C3; HHK2C5).
2. Se comprueba que el crecimiento en invernáculo y bajo luces led afecta los procesos de partición de energía.
3. La energía destinada a la fase fotoquímica (Φ_{PSII}) estuvo determinada por el grado de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}).
4. Los procesos de partición de energía dependen del ambiente lumínico de desarrollo, tanto el flujo lumínico como la calidad espectral.
5. En estos clones la suplementación con luz roja genera cambios en la partición de energía.
6. Suplementación con luz roja disminuye riesgo de daño por exceso lumínico.

6. RESUMEN

Este trabajo plantea como objetivo el análisis de la respuesta fotosintética en clones de *Eucalyptus grandis* sometidos a cambios en la intensidad de radiación lumínica. El material con el cual se trabaja son dos clones de *Eucalyptus grandis*, el HHK1C3 y el HHK2C5. El trabajo comenzó con los plantines de un mes de edad los cuales crecieron en invernáculo durante otro mes para adaptarse y posteriormente fueron seleccionados los mejores individuos para pasar a su ambiente lumínico correspondiente ($400 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $800 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y invernáculo). Luego del desarrollo de una hoja en estos nuevos ambientes se miden los parámetros de partición de energía a través de la fluorescencia a cuatro intensidades de luz actínica (200, 400, 850 y $1700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Estos parámetros de partición de energía fueron Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO} , además para cada uno de estos se realiza la medición de cada uno de los subparámetros que los componen (Φ_{qp} y Φ_{qs} ; $\Phi_{\text{NPQ fast}}$ y $\Phi_{\text{NPQ slow}}$; $\Phi_{\text{NO basal}}$ y $\Phi_{\text{NO PSII}}$). Con los resultados obtenidos se realiza ANAVA para obtener cuales de los efectos fueron significativos sobre los parámetros y luego se estudian las correlaciones. En los grafos se realiza el estudio de las correlaciones entre los parámetros de partición de energía, esto lleva a identificar que para ambos clones y a todas las intensidades de luz medidas la energía que fue destinada para el proceso fotoquímico (Φ_{PSII}) esta determinada por Φ_{qp} (apertura de los centros de reacción) y no por Φ_{qs} (rendimiento cuántico de los centros de reacción). La partición de energía en *Eucalyptus grandis* es genotipo dependiente ya que los valores obtenidos para la partición de energía difirieron para los ambientes lumínicos en estudio. Además, se obtienen fundamentos para concluir que la calidad del espectro lumínico tiene incidencia en la partición de energía. Evaluar los parámetros de partición de energía del PSII es una buena herramienta para la selección de plantines de eucalyptus con mayor capacidad adaptativa ante ambientes lumínicos cambiantes.

Palabras clave: Eucalyptus; Clon; Radiación lumínica; Fotosíntesis; Fluorescencia.

7. SUMMARY

The objective of this work is to analyze the photosynthetic response in *Eucalyptus grandis* clones subjected to changes in the intensity of light radiation. The material with which one works are two clones of *Eucalyptus grandis*, the HHK1C3 and the HHK2C5. The work began with the one-month-old seedlings which grew in the greenhouse for another month to adapt and then the best individuals were selected to pass to their corresponding light environment (400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 800 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ and greenhouse). After the development of a leaf in these new environments, the energy partition parameters are measured through the fluorescence at four actinic intensities (200, 400, 850 and 1700 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). These energy partition parameters were Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} and Φ_{NO} , in addition to each of these, the measurement of each of the subparameters that compose them is carried out (Φ_{qp} and Φ_{qs} ; $\Phi_{\text{NPQ fast}}$ and $\Phi_{\text{NPQ slow}}$; $\Phi_{\text{NO basal}}$ and $\Phi_{\text{NO psii}}$). With the results obtained, ANAVA is performed to obtain which of the effects were significant on the parameters and then the correlations are studied. In the graphs, the study of the correlations between the energy partition parameters is carried out, this leads us to identify that for both clones and all the light intensities measured, the energy that was destined for the photochemical process (Φ_{PSII}) is determined by Φ_{qp} (opening of reaction centers) and not by Φ_{qs} (quantum yield of reaction centers). The energy partition in *Eucalyptus grandis* is genotype dependent since the values obtained for the energy partition differed for the lighting environments under study. In addition, foundations are obtained to conclude that the quality of the light spectrum has an effect on the energy partition. Evaluating the energy partition parameters of the PSII is a good tool for the selection of *Eucalyptus* seedlings with greater adaptive capacity to changing light environments.

Key words: *Eucalyptus*; Clones; Light radiation; Photosynthesis; Fluorescence.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Baker, N. 2008. Chlorophyll Fluorescence: a probe of Photosynthesis in vivo. *Plant Biology*. 59:89-113.
2. Blankenship, R. 2014. *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. 2nd. ed. Chichester, Wiley. 312 p.
3. Brussa, A. 1994. *Eucalyptus: especies de cultivo más frecuentes en Uruguay y regiones de clima templado*. Montevideo, Hemisferio Sur. 328 p.
4. Bustos-Salazar, A. 2009. Ensayo de calidad lumínica en plantas de *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus nitens* y *Pinus radiata* bajo cobertura de malla raschel y papel celofán de colores. (en línea). Tesis Ing. Forestal. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Forestales. 44 p. Consultado 21 abr. 2021. Disponible en <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2009/fifb982e/doc/fifb982e.pdf>
5. Demmig-Adams, B.; Adams, W. III.; Barker, D. H.; Logan, B. A.; Bowling, D. R.; Verhoeven, A. S. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum*. 98:253-264.
6. De Las Rivas, J. 2008a. La luz y el aparato fotosintético. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. *Fundamentos de la fisiología vegetal*. 2^a. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana. pp. 165-190.
7. _____. 2008b. Utilización de la energía luminosa en la fotosíntesis. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. *Fundamentos de la fisiología vegetal*. 2^a. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana. pp. 191-210.
8. Granados-Sánchez, D.; López, G. 2007. Fitogeografía y ecología del género *Eucalyptus*. *Revista Chapingo*. 13(2):143-156.
9. Guarnaschelli, A.; Mantese, A.; Battaglia, A. 2009. Cambios anatómicos y morfológicos en plantas de *Eucalyptus* sp. en respuesta a diferentes niveles de luz. (en línea). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 44 (3-4):273-285. Consultado 23 jun. 2021.

Disponible en <http://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2017/05/GUARNASCHELLI.pdf>

10. Hikosaka, K. 2004. Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research*. 117(6):481-494.
11. IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, CO). 2014. Radiación solar. (en línea). Bogotá. s.p. Consultado jun. 2021. Disponible en [http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/radiacion-solar-ultravioleta#:~:text=Espectro%20electromagn%C3%A9tico%20de%20la%20radiaci%C3%B3n%20solar.&text=publico.es\).-El%20Sol%20emite%20energ%C3%ADa%20en%20forma%20de%20radiaci%C3%B3n%20de%20onda,200%20nm%20a%203.000%20nm](http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/radiacion-solar-ultravioleta#:~:text=Espectro%20electromagn%C3%A9tico%20de%20la%20radiaci%C3%B3n%20solar.&text=publico.es).-El%20Sol%20emite%20energ%C3%ADa%20en%20forma%20de%20radiaci%C3%B3n%20de%20onda,200%20nm%20a%203.000%20nm)).
12. Izquierdo, P. 2010. Evaluación de la energía solar global, difusa y directa en España. Atlas de radiación solar. Tesis doctoral. Vigo, España. Universidad de Vigo. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. 204 p.
13. Kalaji, H. M.; Schansker, G.; Ladle, J.; Goltsev, V.; Bosa, K.; Allakhverdiev, S. I.; Brestic, M.; Bussotti, F.; Calatayud, A.; Dąbrowski, P.; Elsheery, N. I.; Ferroni, L.; Guidi, L.; Hogewoning, S. W.; Jajoo, A.; Misra, A. N.; Nebauer, S. G.; Pancaldi, S.; Penella, C.; Poli, D.; Pollastrini, M.; Romanowska-Duda, Z. B.; Rutkowska, B.; Serôdio, J.; Suresh, K.; Szulc, W.; Tambussi, E.; Yanniccar, M.; Zivcak, M. 2014. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues. *Photosynthesis Research*. 122:121-158.
14. Kasajima, I.; Takahara, K.; Kawai-Yamada, M.; Uchimiya, H. 2009. Estimation of the relative sizes of rate constants for chlorophyll de-excitation processes through comparison of inverse fluorescence intensities. *Plant Cell Physiology*. 50(9):1600-1616.
15. Kato, M.; Hikosaka, K.; Hirotsu, N.; Makino, A.; Hirose, T. 2003. The excess light energy that is neither utilized in photosynthesis nor dissipated by photoprotective mechanisms determines the rate of photoinactivation in photosystem II. *Plant & Cell Physiology*. 44(3):318-325.

16. Lazár, D. 2015. Parameters of photosynthetic energy partitioning. *Journal of Plant Physiology*. 175:131-147.
17. Martín, D. 2017. Producción vegetal: forestación. *Anuario Estadístico Agropecuario DIEA* 2017:117-121.
18. Maxwell, K.; Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51:659-668.
19. Mejía, M.; Burbano, R.; García, M.; Baena, D. 2014. Respuesta fotosintética de *Eucalyptus grandis* W. Hill a la disponibilidad de agua en el suelo y a la intensidad de luz. Palmira, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 7 p.
20. MGAP. OPYPA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Oficina de Programación y Política Agropecuaria, UY). 2019. Anuario de análisis sectorial y cadenas productivas. Montevideo. 663 p.
21. Nión, M. 2018. Caracterización de la actividad fotosintética y anatomía foliar en clones de *Eucalyptus grandis* e híbridos interespecíficos, creciendo en condiciones controladas. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 50 p.
22. Nobel, S. 2009. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. 4th. ed. Los Angeles, Academic Press. 604 p.
23. Ospina, M.; Hernández, R.; Rodas, C.; Urrego, J.; Godoy, J.; Aristizabal, O.; Osorio, O.; Riaño, N. 2006. Guías silviculturales para el manejo de especies forestales con miras a la producción de madera en la zona andina colombiana: el eucalipto. (en línea). Caldas, Cenicafe. 52 p. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://www.cenicafe.org/es/publications/eucalipto.pdf>
24. Pérez-Urria, E. 2009. Fotosíntesis: aspectos básicos. *Reduca. Serie Fisiología Vegetal*. 2(3):1-47.
25. Piazza, S. 2021. Análisis de la respuesta fotosintética en clones de *Eucalyptus* frente a cambios en ambientes lumínicos. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 46 p.

26. Quero, G.; Bonnetcarre, V.; Fernández, S.; Simondi, S.; Borsani, O.; Silva, P. 2018. Light-use efficiency and energy partitioning in rice is cultivar dependent. (en línea). Photosynthesis Research. 140:51-63. Consultado 30 mar. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0605-x>
27. R Core Team. 2017. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, The R Foundation. 1731 p.
28. Russell, L. 2018. Emmeans: estimated marginal means, aka leastsquares means. R package version 1.2.1. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 16 set. 2021. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/index.html>
29. Taiz, L.; Zeiger, E.; Moller, I.; Murphy, A. 2015. Plant Physiology and Development. 6th. ed. Sunderland, Sinauer Associates. 761 p.
30. Uruguay XXI, UY. 2021. Sector forestal en Uruguay. (en línea). Montevideo. 48 p. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://www.uruguayxxi.gub.uy/uploads/informacion/a29771e03cc49e42fe516c01b0d271dc0fcf4cbe.pdf>
31. Zavafer, A.; Cheah, M.; Hillier, W.; Chow, W.; Takahashi, S. 2015. Photodamage to the oxygen evolving complex of photosystem II by visible light. Scientific Reports. 5:1-8.

9. ANEXOS

Cuadro 1. ANOVA para el parámetro Φ_{PSII}

FDV	D F	SS	MS	F_val	Pr(>Fval)
ambiente	2	0,17	0,09	22,6	2,94E-08
protocolo	3	2,71	0,9	236,6	6,64E-36
genotipo	1	0,08	0,08	21,3	1,78E-05
ambiente:protocolo	6	0,03	0	1,2	3,01E-01
ambiente:genotipo	2	0,02	0,01	2,3	1,12E-01
protocolo:genotipo	3	0,03	0,01	2,7	5,49E-02
Ambiente protocolo genotipo	6	0,01	0	0,6	7,59E-01
Residuals	6 8	0,26	0	NA	NA

Cuadro 2. ANOVA para el parámetro Φ_{qp}

FDV	DF	SS	MS	F_val	Pr(>Fval)
ambiente	2	0,22	0,11	17,3	8,71E-07
protocolo	3	3,72	1,24	198,1	3,06E-33
genotipo	1	0,11	0,11	17,3	9,10E-05
ambiente:protocolo	6	0,05	0,01	1,2	3,06E-01
ambiente:genotipo	2	0,03	0,01	2,1	1,33E-01
protocolo:genotipo	3	0,03	0,01	1,5	2,14E-01
ambiente:protocolo: genotipo	6	0,02	0	0,4	8,71E-01
Residuals	67	0,42	0,01	NA	NA

Cuadro 3. ANOVA para el parámetro Φ_{NPQ}

FDV	DF	SS	MS	F_val	Pr(>Fval)
ambiente	2	0,18	0,09	22,6	3,17E-08
protocolo	3	3,04	1,01	251,5	2,17E-36
genotipo	1	0,13	0,13	32,2	3,24E-07
ambiente:protocolo	6	0,03	0	1,2	3,40E-01

ambiente:genotipo	2	0,02	0,01	2,4	1,01E-01
protocolo:genotipo	3	0,06	0,02	4,8	4,26E-03
ambiente:protocolo: genotipo	6	0,02	0	0,8	5,99E-01
Residuals	67	0,27	0	NA	NA

Cuadro 4. ANOVA para el parámetro $\Phi_{NPQFast}$

FDV	DF	SS	MS	F_val	Pr(>Fval)
ambiente	2	0,11	0,06	17,6	7,14E-07
protocolo	3	2,71	0,9	281,2	6,91E-38
genotipo	1	0,11	0,11	35,6	1,01E-07
ambiente:protocolo	6	0,03	0,01	1,7	1,24E-01
ambiente:genotipo	2	0,03	0,01	3,9	2,47E-02
protocolo:genotipo	3	0,05	0,02	5,4	2,29E-03
ambiente:protocolo: genotipo	6	0,01	0	0,7	6,17E-01
Residuals	67	0,22	0	NA	NA

Cuadro 5. Correlaciones para HHK1C3 invernáculo

Parámetro 1	Parámetro 2	Correlación
qp.fo	qs.fo	0,68
qp.fo	phiNO.psII	-0,32
qs.fo	phiNO.psII	-0,10
qp.fo	phiNO.basal	
qs.fo	phiNO.basal	-0,13
phiNO.psII	phiNO.basal	0,19
qp.fo	phiNPQfast	-0,98
qs.fo	phiNPQfast	-0,71
phiNO.psII	phiNPQfast	0,16
phiNO.basal	phiNPQfast	-0,56
qp.fo	phiNPQslow	-0,85
qs.fo	phiNPQslow	-0,53
phiNO.psII	phiNPQslow	0,17
phiNO.basal	phiNPQslow	-0,48
phiNPQfast	phiNPQslow	0,81

Cuadro 6. Correlaciones para HHK1C3 en LB400

Parámetro 1	Parámetro 2	Correlación
qp.fo	qs.fo	0,68
qp.fo	phiNO.psII	-0,06
qs.fo	phiNO.psII	0,38
qp.fo	phiNO.basal	0,61
qs.fo	phiNO.basal	0,14
phiNO.psII	phiNO.basal	0,14
qp.fo	phiNPQfast	-0,97
qs.fo	phiNPQfast	-0,77

phiNO.psII	phiNPQfast	-0,17
phiNO.basal	phiNPQfast	-0,66
qp.fo	phiNPQslow	-0,48
qs.fo	phiNPQslow	-0,33
phiNO.psII	phiNPQslow	0,01
phiNO.basal	phiNPQslow	-0,28
phiNPQfast	phiNPQslow	0,43

Cuadro 7. Correlaciones para HHK1C3 en LB800

Parámetro 1	Parámetro 2	Correlación
qp.fo	qs.fo	0,46
qp.fo	phiNO.psII	0,04
qs.fo	phiNO.psII	0,64
qp.fo	phiNO.basal	0,65
qs.fo	phiNO.basal	0,25
phiNO.psII	phiNO.basal	0,45
qp.fo	phiNPQfast	-0,93
qs.fo	phiNPQfast	-0,68
phiNO.psII	phiNPQfast	-0,38
phiNO.basal	phiNPQfast	-0,74
qp.fo	phiNPQslow	-0,55
qs.fo	phiNPQslow	-0,30
phiNO.psII	phiNPQslow	-0,28
phiNO.basal	phiNPQslow	-0,56
phiNPQfast	phiNPQslow	0,53

Cuadro 8. Correlaciones para HHK2C5 para invernáculo

Parámetro 1	Parámetro 2	Correlación
qp.fo	qs.fo	0,61
qp.fo	phiNO.psII	-0,77
qs.fo	phiNO.psII	-0,34
qp.fo	phiNO.basal	0,49
qs.fo	phiNO.basal	-0,07
phiNO.psII	phiNO.basal	-0,05
qp.fo	phiNPQfast	-0,99
qs.fo	phiNPQfast	-0,62
phiNO.psII	phiNPQfast	0,69
phiNO.basal	phiNPQfast	-0,57
qp.fo	phiNPQslow	-0,70
qs.fo	phiNPQslow	-0,40
phiNO.psII	phiNPQslow	0,22
phiNO.basal	phiNPQslow	-0,64
phiNPQfast	phiNPQslow	0,71

Cuadro 9. Correlaciones para HHK2C5 para LB400

Parámetro 1	Parámetro 2	Correlación
qp.fo	qs.fo	0,49
qp.fo	phiNO.psII	-0,49
qs.fo	phiNO.psII	0,18
qp.fo	phiNO.basal	0,67
qs.fo	phiNO.basal	0,08
phiNO.psII	phiNO.basal	-0,03
qp.fo	phiNPQfast	-0,97
qs.fo	phiNPQfast	-0,64
phiNO.psII	phiNPQfast	0,27
phiNO.basal	phiNPQfast	-0,70

qp.fo	phiNPQslow	-0,59
qs.fo	phiNPQslow	-0,07
phiNO.psII	phiNPQslow	0,25
phiNO.basal	phiNPQslow	-0,54
phiNPQfast	phiNPQslow	0,53

Cuadro 10. Correlaciones para HHK2C5 para LB800

Parámetro 1	Parámetro 2	Correlación
qp.fo	qs.fo	-0,05
qp.fo	phiNO.psII	-0,27
qs.fo	phiNO.psII	0,51
qp.fo	phiNO.basal	0,74
qs.fo	phiNO.basal	-0,54
phiNO.psII	phiNO.basal	-0,13
qp.fo	phiNPQfast	-0,98
qs.fo	phiNPQfast	-0,13
phiNO.psII	phiNPQfast	0,14
phiNO.basal	phiNPQfast	-0,66
qp.fo	phiNPQslow	-0,07
qs.fo	phiNPQslow	-0,06
phiNO.psII	phiNPQslow	-0,48
phiNO.basal	phiNPQslow	-0,31
phiNPQfast	phiNPQslow	0,08