

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA FOTOSINTÉTICA EN GENOTIPOS DE
CEBADA

por

Thiago FLEITAS UMPIÉRREZ
Guillermo PEREYRA BERGERO

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
2022

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. Luis Viega

Lic. Dr. Gastón Quero

Lic. Mag. Nicolás Glison

Fecha: 1 de julio de 2022

Autores:

Thiago Fleitas Umpiérrez

Guillermo Pereyra Bergero

AGRADECIMIENTOS

A nuestro tutor el Lic. Biol. Dr. Gastón Quero por guiarnos, por su motivación constante y su disposición a lo largo de todo el trabajo.

A nuestro director MSc. Luis Viega, por darnos la oportunidad de realizar este trabajo de investigación.

A los docentes y colaboradores del Departamento de Biología Vegetal por prestarnos en tiempo y forma todos los instrumentos necesarios.

A nuestra familia por el apoyo brindado durante toda la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VII
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
A. OBJETIVOS.....	1
1. <u>Objetivo general</u>	1
2. <u>Objetivos específicos</u>	1
II. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
A. LA CEBADA COMO PLANTA MODELO Y CULTIVO	2
B. EL PROCESO FOTOSINTÉTICO	4
1. <u>Proceso fotofísico</u>	4
2. <u>Proceso fotoquímico</u>	5
3. <u>Proceso bioquímico</u>	5
C. FACTORES AMBIENTALES.....	6
1. <u>CO₂ y temperatura</u>	6
2. <u>Ambiente lumínico</u>	7
a. Eficiencia de uso de la radiación.....	8
b. Absorción de la luz.....	8
c. Incidencia espectral de la luz	9
D. FOTOINHIBICIÓN	9
1. <u>Carácter de la FI</u>	10
2. <u>Donde y como se genera la FI</u>	10
3. <u>Hipótesis del fotodaño</u>	10
4. <u>Respuesta frente al fotodaño</u>	11
5. <u>Costo energético del fotodaño</u>	12

E. FOTOPROTECCIÓN.....	12
1. <u>Efecto de la intensidad lumínica en la fotoprotección</u>	13
F. FLUORESCENCIA DE LAS CLOROFILAS	13
1. <u>Generalidades</u>	13
2. <u>Técnicas de medición</u>	14
3. <u>Partición de energía</u>	16
G. HIPÓTESIS	18
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	19
A. INSTALACIÓN DEL ENSAYO.....	19
B. FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA.....	20
C. DETERMINACIÓN DE LA FLUORESCENCIA	20
D. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE DATOS	22
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	23
A. CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS DE PARTICIÓN DE ENERGÍA.....	23
B. EFECTO DE LAS FUENTES DE VARIACIÓN SOBRE LOS PARÁMETROS DE PARTICIÓN DE ENERGÍA.....	25
1. <u>Interacción entre ambiente lumínico de desarrollo foliar y luz actínica, en la correlación de los parámetros de partición de energía</u>	25
2. <u>Interacción entre ambiente lumínico de desarrollo foliar y los genotipos en la correlación de los parámetros de partición de energía</u>	28
a. Ambiente lumínico: invernáculo.....	28
b. Ambiente lumínico: LED blanco.....	31
c. Ambiente lumínico: LED azul.....	33
d. Ambiente lumínico: LED rojo.....	35
V. <u>CONCLUSIONES</u>	38
VI. <u>RESUMEN</u>	40

VII. <u>SUMMARY</u>	41
VIII. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	42
IX. <u>ANEXOS</u>	51

LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura No.	Página
1. Ejemplo de perfil de medición de fluorescencia mediante análisis de quenching y de relajación con fluorómetro PAM	16
2. Ecuaciones de la partición de energía, rendimiento cuántico del PSII	17
3. Croquis de la instalación del ensayo	19
4. Relevamiento del espectro lumínico establecido en cada ensayo	21
5. Correlación entre parámetros que componen la fluorescencia	24
6. Correlación de los parámetros PSII y Φ_{qp}	25
7. Correlación entre los parámetros Φ_{NPQ} y $\Phi_{NPQfast}$	26
8. Correlación de los parámetros $\Phi_{NPQfast}$ y Φ_{qp}	27
9. Correlación de los parámetros $\Phi_{NO\ basal}$ y Φ_{qp}	28
10. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en invernáculo	30
11. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en led blanco	32
12. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en ambiente led azul	34
13. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en ambiente led rojo	36

I. INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es el cuarto cereal en importancia en el mundo después del trigo, maíz y arroz. Se caracteriza como anual-invernal presentando una amplia adaptación ecológica, como la utilización para alimentación animal y humana, así como también la propiedad de lograr alta calidad de malta para la fabricación de cerveza. A pesar de la reducción en la demanda mundial de dicho cereal, se mantiene como un insumo de gran importancia en la industria alimentaria, especialmente para la industria maltera. Su amplia adaptación a suelos de bajas aptitudes, así como también su implementación en la dieta animal, alimentos y superioridad en producción maltera y cerveza, permite que la cebada sea una planta de cultivo anual sumamente utilizada a lo largo de los siglos (Giménez et al., 2008).

Lograr mayores rendimientos no solo se basa en liberar genotipos más productivos, sino que es necesario diferenciar ambientes de producción y caracterizar genotipos más específicamente. Explotar las aptitudes de cada cultivar, crea la necesidad de información que permita entender y predecir la respuesta diferencial entre cultivares (Hoffman et al., 2018).

Estudiar y analizar los diferentes cultivares disponibles en el mercado es de suma relevancia para poder brindar información que permita crecer a nivel productivo. Es por ello que para caracterizar el potencial productivo de cada genotipo se requiere el estudio de la eficiencia en el uso de los recursos. La eficiencia de uso de luz es una de las variables que afectan el rendimiento potencial de los cultivares. Establecido esto, este trabajo se centra en el estudio la actividad fotosintética, específicamente en la partición de energía para genotipos con diferencias en su potencial de rendimiento.

A. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Caracterizar la respuesta fotosintética en cultivares de cebada con diferencias en el potencial de rendimiento en grano en función del ambiente lumínico de desarrollo.

2. Objetivos específicos

- a) Caracterizar el efecto del ambiente lumínico sobre la partición de energía en el fotosistema II, por medio de análisis de fluorescencia de la clorofila.
- b) Evaluar la partición de energía en el fotosistema II en siete genotipos de cebada.
- c) Releva la interacción genotipo por ambiente lumínico en la partición de energía a nivel del fotosistema II.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. LA CEBADA COMO PLANTA MODELO Y CULTIVO

El género *Hordeum* está formado por 32 especies, comprendiendo 45 taxa de los cuales *Hordeum vulgare* L. es la única especie que ha sido domesticada. Existen registros de su domesticación a partir de su progenitor *Hordeum vulgares sp. spontaneum* desde hace 10.000 años, probablemente en la parte oeste de la media luna fértil, por lo que es considerada como una de las especies fundadoras de la agricultura moderna. En la actualidad se emplea para la alimentación de ganado, fabricación de malta para cerveza y whisky, y para consumo humano. La cebada es un cultivo de fácil adaptación, crece desde los 330 metros sobre el nivel del mar, hasta los 4200 metros de altura en los Andes bolivianos y es cultivado en suelos y climas desfavorables (Von Bothmer et al., 1995).

Las aptitudes agro-climáticas del Uruguay presentan grandes contrastes a lo largo de su territorio, lo que implica apostar a un manejo diferencial tanto para genotipos como para ambientes. Actualmente en Uruguay el área destinada al cultivo de cebada, para el año agrícola 2020/2021, se estimó en 185000 ha con rendimientos promedio de 4790 kg ha⁻¹, los cuales se consideran como rendimientos récord para cebada cervecera. La cebada es el segundo cereal de invierno, después del trigo (Couto et al., 2021)

La cebada es el cultivo que ha tenido un mayor crecimiento en su producción y rendimiento en los últimos años, pero no es la opción principal de invierno, ya que su rendimiento muestra una gran sensibilidad a las variaciones climáticas. Los distintos contrastes mencionados anteriormente, generan zonas en las que los cultivos están expuestos en mayor o menor medida a situaciones de estrés, por lo que, la expansión agrícola hacia zonas marginales hace que el cultivo de cebada se desarrolle en condiciones sub-óptimas, derivando esto en siembras tardías o tempranas, quedando expuesto el cultivo a condiciones favorables para el desarrollo de enfermedades y excesos hídricos (Hoffman et al., 2015).

El comportamiento diferencial que presentan los distintos genotipos frente a los cambios ambientales, se denomina interacción genotipo por ambiente. Para poder entender y predecir dicha interacción es necesario crear información, siendo más minuciosos en la época y densidad de siembra, no dejando de lado los cuidados sanitarios, y últimamente los riesgos hídricos (Hoffman et al., 2020).

Córdoba (2015), señala que, la cebada se ha considerado como planta modelo por ser una especie diploide, autógena y un cultivo de climas templados. En la actualidad existen grandes colecciones de germoplasma de la misma, en las cuales se encuentran alelos con gran diversidad genética. Estos alelos son una oportunidad para mejorar la respuesta al estrés y la calidad del grano. Además, el genoma de la cebada

tiene gran abundancia de secuencias repetidas, aproximadamente un 84% está compuesto por elementos móviles y otras estructuras repetidas como retrotransposones. Estas características contribuyen a que la cebada sea considerada un modelo de estudio para el mejoramiento. Además, su genoma ha sido recientemente secuenciado por completo. Esto permite estudiar las bases genéticas que participan en la regulación del rendimiento. Posibilitando generar incrementos para varios atributos, como son el rendimiento y la calidad del grano, lo que deriva en mejores productos finales como son la malta, cerveza y whisky.

Los marcadores moleculares son tecnologías que se han utilizado de forma exitosa en la última década para identificar loci de rasgos cuantitativos (QTL) y para comprender las bases genéticas del rendimiento y de la respuesta al estrés abiótico (Ribaut et al. 1997, Courtois et al. 2000). Lograr mayores rendimientos en cebada en suelos de baja aptitud agrícola es un desafío importante, para ello es de suma relevancia establecer un camino donde cada proceso sea de utilidad para cumplir los objetivos planteados.

El rendimiento del cultivo se correlaciona positivamente con la capacidad fotosintética dentro de la etapa reproductiva, así como también existe una relación positiva entre la tasa fotosintética y el contenido de clorofila (Rawson et al., 1980). Muchos estudios indican que la capacidad de mantener el verde en las plantas se asocia con mayor rendimiento y transpiración en condiciones de estrés hídrico en sorgo, maíz y trigo (Benbella y Paulsen 1998, Baenziger et al. 1999, Borrell et al. 2000, Haussmann et al. 2002, Verma et al. 2004).

En las últimas décadas la identificación de loci de rasgos cuantitativos (QTL) mediante marcadores moleculares ha sido utilizada con éxito, ya que puede reducir problemas asociados a interacción genotipo por ambiente, mejorar la eficiencia de selección y facilitar la combinación de diferentes rasgos de tolerancia en un genotipo único (Lu y Zhang, 1999).

En este trabajo se utilizó la fluorescencia de la clorofila emitida por el fotosistema II (PSII) como indicador del comportamiento energético (Krause y Weiss 1991, Dau 1994). Se ha reportado que valores de fluorescencia de clorofila muestran una alta correlación genética con el rendimiento. Por lo tanto, el uso de la fluorescencia de clorofila se muestra como una herramienta fiable para evaluar el rendimiento potencial de diferentes genotipos (Araus y Hogan 1994, Araus et al. 1998).

B. EL PROCESO FOTOSINTÉTICO

La fotosíntesis es un proceso biológico donde la energía de la luz es captada y almacenada por un organismo, la cual luego es utilizada para impulsar procesos celulares que requieren energía (Blankenship, 2014). Se pueden diferenciar dos grandes fases, una primera de absorción y conversión de energía y una segunda de toma y asimilación de CO₂. La energía luminosa es absorbida por moléculas fotosensibles y transformada en una forma de energía estable como son el NADPH, el ATP y carbohidratos. En ambas fases, la absorción de energía y la incorporación de CO₂, están perfectamente coordinadas e interrelacionadas (De la Rivas, 2008).

En los organismos eucariotas como las plantas vasculares, la fotosíntesis tiene lugar en los tejidos fotosintéticos ubicados mayormente en las hojas, más específicamente en los cloroplastos de las células del mesófilo. Dichos órganos están separados del citosol celular por una doble membrana llamada envoltura cloroplástica. La membrana más externa a diferencia de la interna es más permeable y menos selectiva. Esta membrana interna forma parte de un complejo sistema membranoso que constituye una parte esencial del cloroplasto llamados tilacoides o membranas tilacoidales, en las cuales se lleva a cabo las primeras etapas de la fotosíntesis. En dicha membrana se encuentran insertados cuatro complejos proteínicos que llevan a cabo la primera fase fotosintética, dos de dichos complejos son los fotosistemas (fotosistema I y II). Estos tienen la capacidad de absorber y transformar la energía fotónica en energía electroquímica redox. El tercer complejo es un conector de los dos fotosistemas, llamado citocromo b6f. El cuarto complejo, llamado ATP sintasa, utiliza el gradiente de protones que los otros complejos han formado a través del tilacoide. Los protones al moverse del lumen al estroma a favor de gradiente, proporcionan energía que es aprovechada por la ATP sintasa, para formar ATP (De la Rivas, 2008).

Dentro de las dos grandes fases de la fotosíntesis se pueden diferenciar cuatro procesos de almacenamiento de energía: 1) absorción de la luz y transferencia de energía por parte de los complejos antena, 2) transferencia primaria de electrones a los centros de reacción, 3) estabilización de la energía mediante procesos secundarios, y 4) síntesis y exportación de productos estables (Blankenship, 2014).

1. Proceso fotofísico

Para que la energía proveniente de la luz sea almacenada, primero debe ser absorbida. La mayoría de los pigmentos del fotosistema actúan como receptores, “antenas” que conducen la energía hacia los centros de reacción. Los pigmentos que se ubican en la periferia de dichos centros absorben luz a longitudes de onda más cortas, por lo tanto, a energías de excitación más alta que los del núcleo. La absorción de

fotones crea un estado de excitación el cual genera una separación de cargas en el centro de reacción. Básicamente, las “antenas” tienen la función de transferir la energía, lo cual implica la migración de estados electrónicos excitados de una molécula a otra. Pigmentos asociados al aparato fotosintético como son las clorofilas y los carotenoides llevan a cabo dicha función (Blankenship, 2014).

2. Proceso fotoquímico

Los centros de reacción son complejos proteicos a los cuales se les integran pigmentos como la clorofila a y b, y carotenoides. Es donde se lleva a cabo la transformación de estados excitados a cambios químicos de las moléculas. Dentro de cada centro se encuentran dímeros de clorofila a los cuales son los principales donantes de electrones (Blankenship, 2014).

La estabilización de la energía proveniente de fotones tiene como finalidad almacenar la misma en formas asimilables. La transferencia de un electrón desde un pigmento excitado como la clorofila, a una molécula receptora, es seguida por la separación de cargas positivas y negativas mediante reacciones químicas muy rápidas. La transferencia de cargas negativas genera un movimiento de protones acoplados a través de la membrana, la cual da como resultado una diferencia de pH y potencial eléctrico a ambos lados de la misma. Este gradiente de potencial electroquímico se denomina fuerza protón-motriz y se utiliza para impulsar la síntesis de ATP (Blankenship, 2014).

El agua actúa como donador de electrones, la cual, se oxida en el centro partidor de agua del fotosistema II, liberando oxígeno molecular y agua. Los electrones extraídos del agua se transportan a través de una proteína denominada plastoquinona y del citocromo b6/f hacia el fotosistema I, donde nuevamente se lleva a cabo una separación de cargas. Luego de una serie de transferencias de electrones impulsados por luz, se reduce un aceptor intermedio de electrones llamado NADP⁺, formándose NADPH (Blankenship, 2014).

3. Proceso bioquímico

La fase final del almacenamiento de energía implica producción de moléculas estables de alta energía la cual serán utilizadas para alimentar procesos celulares. En esta fase se utiliza el aceptor intermedio reducido NADPH y el ATP para la reducción del dióxido de carbono a triosas fosfato (Blankenship, 2014).

El proceso predominante en esta fase se denomina ciclo de Calvin-Benson, el cual se presenta en todas las eucariotas fotosintéticas y también en numerosas procariontas. Dicho proceso comprende tres etapas muy distintas. La primera etapa se denomina carboxilación la cual incorpora tres moléculas de CO₂ y tres de agua a otras

tres moléculas de cinco carbonos denominada ribulosa 1, 5-bifosfato. La ribulosa 1, 5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco) es la enzima que cataliza esta reacción que da como resultado la formación de seis moléculas de tres carbonos (3-fosfoglicerato). En la segunda etapa se reduce dicho compuesto, utilizando el NADPH y el ATP generados durante los procesos fotoquímicos, quedando como resultado final seis moléculas de gliceraldehido 3-fosfato (Buchanan et al. 2015, Taiz et al. 2015).

En la última fase del ciclo de Calvin, denominada regeneración, se regenera la ribulosa 1, 5-bifosfato necesaria para reiniciar un nuevo ciclo. Para que esto ocurra es necesaria una serie de reacciones en las que se consume ATP y cinco de las seis moléculas de gliceraldehido 3-fosfato. La molécula de este compuesto que no se utilizó en la regeneración será utilizada como insumo para la síntesis de compuestos carbonados. Como síntesis, se necesitan tres moléculas de CO_2 , tres de ribulosa 1, 5-bifosfato, tres de agua y seis de NADPH y nueve de ATP para sintetizar una molécula de tres carbonos, la cuál es precursora de carbohidratos más complejos (Buchanan et al. 2015, Taiz et al. 2015).

C. FACTORES AMBIENTALES

1. CO₂ y temperatura

El estudio del efecto ambiental sobre la fotosíntesis es de suma importancia, ya que permite comprender la respuesta fotosintética a factores ambientales como la luz, temperatura y concentración de CO_2 . La dependencia del entorno en el proceso fotosintético está directamente relacionada a la productividad de los cultivos, y por tanto su rendimiento. La energía solar interceptada por los organismos fotosintéticos es absorbida por las hojas, dirigiéndose a los fotosistemas I y II, que impulsa el transporte lineal y cíclico de electrones que producen NADPH Y ATP necesarios para la síntesis de azúcares. Las diferentes demandas de estos productos pueden ser consecuencia de la variabilidad del ambiente (Brestic et al., 2008).

El CO_2 en la atmósfera representa el 0,037% del total de los gases. Para que la fotosíntesis se lleve a cabo el CO_2 tiene que difundirse desde la atmósfera a la hoja y al lugar donde se produce la carboxilación de la rubisco. El punto de compensación de CO_2 refleja la concentración de el CO_2 donde se alcanza el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración. En plantas, aumentar la concentración de CO_2 sobre el punto de compensación del CO_2 estimula la fotosíntesis. En cebada, debido a su metabolismo (planta C3) el aumento de los niveles de presión parcial interna de CO_2 (C_i) de forma continua estimula la fotosíntesis en un rango mucho más amplio que en plantas C4 (Taiz y Zeiger, 2006).

La temperatura afecta todas las reacciones bioquímicas en la fotosíntesis. En plantas con metabolismo C3 como es el caso de la cebada la eficiencia fotosintética disminuye con incrementos en la temperatura. Esto ocurre en gran parte debido a que se estimula la fotorrespiración lo que determina una demanda energética más alta para el fijado del CO₂ neto. Las diferentes especies evolucionaron en diferentes ambientes por lo cual presentan distintas temperaturas óptimas para realizar fotosíntesis. Las plantas de una misma especie, maximizan la tasa fotosintética cuando son expuestas al ambiente del cual se originaron (Taiz y Zeiger, 2006).

2. Ambiente lumínico

La caracterización de la luz se basa en tres parámetros: 1) dirección, 2) la calidad espectral (longitud de onda) y 3) flujo lumínico (cantidad de luz). La dirección hace referencia a si es luz directa o luz difusa. La iluminación directa es aquella luz que incide directamente sobre el objeto o espacio a iluminar, mientras que la luz difusa es una luz más suave que se dispersa y proviene de todas las direcciones, sin la intensidad de la luz directa, se dispersa y proviene de todas las direcciones. El presente trabajo se centró en los efectos de flujo lumínico y calidad espectral de la luz directa sobre la respuesta fotosintética.

La luz puede definirse como onda o como partícula, dicha partícula denominada fotón contiene una unidad discreta de energía la cual depende directamente de la longitud de onda. El intervalo entre 400 a 700 nm de longitud de onda que emite la luz solar es lo que se conoce como radiación fotosintéticamente activa (PAR). Dentro de la radiación PAR, el 15% corresponde a la longitud de onda verde la cual es reflejada por las hojas, mientras que el restante 85% puede ser utilizada para el proceso fotosintético. De esta proporción, la mayor parte se disipa como calor y el resto (5%) se utiliza efectivamente en el proceso fotosintético (Buchanan et al. 2015, Taiz et al. 2015).

El flujo lumínico, denominado en inglés como Photosynthetic Photon Flux Density (PPFD) puede medirse como el número de fotones incidentes por unidad de área por unidad de tiempo (μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Esta medida se denomina radiación (Taiz y Zeiger, 2006). Bajo la luz directa del sol, en épocas de alta luminosidad como en verano, la radiación PAR es de aproximadamente $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, equivalente a unos 400 Wm^{-2} (en términos de potencia). La fijación neta de CO₂ o fotosíntesis neta es la diferencia entre el carbono fijado y las pérdidas debidas a la respiración y fotorrespiración. A medida que la irradiancia aumenta, la asimilación neta de CO₂ incrementa hasta igualarse con el CO₂ que se pierde por respiración mitocondrial y fotorrespiración. Este punto, en el que la incorporación de CO₂ se iguala a la liberación de CO₂ se denomina punto de compensación de la luz. En este punto ambos procesos se equilibran dando como resultado un valor de cero para la fotosíntesis neta. A partir de dicho punto, el valor del CO₂ fijado aumenta con la radiación, inicialmente de modo

proporcional y después más lentamente hasta alcanzar el punto de saturación lumínica en el que el valor de la fotosíntesis es máximo (Taiz y Zeiger, 2006).

Las variaciones en el flujo lumínico y la calidad espectral de la radiación incidente pueden repercutir en cambios morfológicos y fisiológicos, así como en el crecimiento y desarrollo de la planta. Establecer experimentos con PPF_D variable es relativamente sencillo ya que se utilizan mallas de distintas densidades para reducir la cantidad de irradiancia. Por otra parte, los tratamientos específicos de calidad espectral son más complejos. El uso de diodos emisores de luz artificial (LED) permite combinar rangos espectrales con PPF_D variables permitiendo analizar los efectos de los componentes del ambiente lumínico en los procesos de conversión de energía durante la fotosíntesis (Murchie et al., 2002).

Se han encontrado evidencias que la calidad del espectro lumínico afecta la tasa fotosintética y la eficiencia cuántica de asimilación del CO₂ (Johkan et al. 2010, Takahashi et al. 2012). Estudios realizados por Quero et al. (2019) en plantas de arroz establecen que la tasa fotosintética está estrechamente ligada a la calidad de la luz y al genotipo expuesto. Las hojas desarrolladas en ambientes de luz blanca y bajos niveles de energía repercutieron negativamente sobre los centros de reacción del PSII, disminuyendo la actividad fotoquímica. Debido a esto, concluyen que, el duplicar la energía de radiación en ambiente bajo luz azul y roja no se reproduce la misma respuesta que manteniendo esa misma intensidad en ambientes de luz blanca.

a. Eficiencia de uso de radiación

La eficiencia de conversión de energía lumínica en biomasa vegetal se denomina eficiencia de uso de la radiación (EUR, Medlyn, 1998). A nivel de planta la EUR puede estimarse como la relación entre crecimiento diario de biomasa y el nivel de PPF_D, mientras que a nivel del aparato fotosintético dicho parámetro se conoce como rendimiento cuántico (Φ) (Quero et al., 2019). Al igual que todos los procesos fotosintéticos, el rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}) se ve afectado tanto por el exceso lumínico como por la calidad espectral del mismo. Esto se debe a que los pigmentos del complejo antena del PSII, el centro de reacción y el complejo partidor de agua presentan respuestas diferenciales frente a la longitud de onda del espectro lumínico. Es por ello que diferentes ambientes lumínicos generan cambios en Φ_{PSII} (Hogewoning et al., 2012).

b. Absorción de la luz

En las plantas el proceso de fotosíntesis comienza con la absorción de luz por parte de los pigmentos que conforman los complejos antena de los centros de reacción tanto del PSI y PSII. Dentro de los pigmentos que conforman los complejos antena se encuentran las clorofilas, que absorben la radiación en el rango del azul y del rojo, y a los carotenoides, los cuales absorben en el rango entre el verde y el amarillo. En las

plantas superiores, existen dos tipos de clorofila, a y b, mientras que los carotenoides se pueden diferenciar en xantofilas o carotenos (De la Rivas, 2008).

c. Incidencia espectral de la luz

Como se mencionó anteriormente, la eficiencia de utilización de los fotones incidente depende de la longitud de onda (Hoover, 1937). En primera instancia existe dependencia por parte de los pigmentos de la hoja a la longitud de onda, ya que cada uno es funcional en determinado intervalo espectral. En segundo lugar, los diferentes intervalos de longitud de onda inciden diferencialmente obteniéndose diferentes rendimientos cuánticos para la fijación de CO₂. Si bien cada fotón incidente impulsa un electrón, los fotones en el intervalo de luz roja (600-700 nm) tienen mayor rendimiento cuántico, mientras que el intervalo del azul y verde (400-570 nm) son menos eficientes para impulsar la fotosíntesis ya que tienen más energía por fotón. Según Evans (1986) los rendimientos cuánticos máximos relevados en plantas C3 rondan los 0,093 mol de CO₂ fijado.

Según Terashima et al. (2009), existen tres causas que explican la dependencia de la longitud de onda con el rendimiento cuántico de los fotones absorbidos, la absorción por los carotenoides fotosintéticos, la absorción por los pigmentos no fotosintéticos y la excitación desequilibrada por los dos fotosistemas.

Dentro del grupo de los carotenoides, y según la posición en que se ubican dentro del aparato fotosintético, se observa que, tienen máximos de absorción dentro del intervalo de los azules con variaciones en eficiencia entre el 35% y el 90 % para transferencia de energía de excitación a las clorofilas. Mientras que dicha transferencia entre moléculas de clorofila a clorofila, la eficiencia es de 100% (Croce et al., 2001). Los pigmentos no fotosintéticos como los flavonoides absorben la luz mayormente en el intervalo del ultravioleta pero no transfieren ninguna energía absorbida al aparato fotosintético. Ambos fotosistemas, PSI y PSII difieren en composición de pigmentos y propiedades de absorción. Como consecuencia tienen en común que el equilibrio de excitación depende de la longitud de onda (Evans, 1986).

D. FOTOINHIBICIÓN

Tal como menciona De la Rivas (2008), la energía luminosa del sol que es absorbida por una planta, solo puede seguir dos vías: 1) ser transformada eficazmente en otra forma de energía acumulable; o 2) ser disipada por conversión a otras formas de energía no acumulable.

Estas dos vías están en continuo equilibrio y en relación inversa: cuando aumenta la primera (transformación eficaz) disminuye la segunda (disipación térmica), y

viceversa. La disipación térmica en general se denomina fotoinhibición (FI), en el cual el daño provocado por el exceso de luz, hace disminuir la tasa fotosintética y afecta de manera significativa la producción en condiciones a campo. Los procesos que definen la FI pueden ser reversibles, jugando un rol protector de los fotosistemas, así como también pueden provocar daños irreversibles (De la Rivas, 2008).

1. Carácter de la FI

La FI, se caracteriza en base a la cantidad de luz a la que son expuestas las plantas. Cuando hay excesos moderados, se reduce la utilización de los fotones, pero no se modifica la tasa fotosintética. Este tipo de FI se conoce como fotoinhibición dinámica y se origina mediante la conversión en calor de la energía luminosa absorbida excedente. Cuando el exceso de luz es extremo, se pueden dañar los fotosistemas causando descenso de la utilización de los fotones, así como también la tasa fotosintética, dicho efecto se conoce como fotoinhibición crónica (Alves et al., 2002).

2. Donde y como se genera la FI

Los procesos de fotoinhibición pueden ocurrir tanto en el PSII como en el PSI (Klimov et al., 1990). Dichos procesos son proporcionales a la intensidad de la luz (Allakhverdiev y Murata, 2004) a la tasa de inactivación y reparación de los fotosistemas, al tamaño y la heterogeneidad del fotosistema II (Mehta et al., 2010), y a la relación estequiométrica entre los fotosistemas (Brestic et al., 2016).

Los diferentes rangos de calidad espectral que inciden sobre la superficie de la hoja penetran en el tejido con distinta eficacia, por lo que se crea un gradiente de irradiación específico para cada intervalo espectral. Por ejemplo, las clorofilas absorben intensamente en el rango del rojo y azul, mientras que los carotenoides preferentemente en los azules. La luz verde es menos absorbida por la hoja por lo que penetra más profundamente en la hoja que la luz azul y roja (Semer et al., 2018).

Contemplando que el aparato fotosintético consiste en dos fotosistemas conectados en serie, la excitación de solo un fotosistema da lugar a una disminución global de la eficiencia fotosintética. La luz azul en el intervalo de 400-500 nm es preferentemente absorbida por el PSII, lo que conlleva un rápido cierre de los centros de reacción del PSII, así como también la reducción del Φ_{PSII} (Semer et al., 2018). En contraste con esto, Sztatelman et al. (2010) observaron mayor Φ_{PSII} para el rojo que para el azul.

3. Hipótesis del fotodaño

Actualmente existen dos modelos para explicar los procesos de daño durante la FI. El primer modelo denominado exceso de excitación afirma que se producen

reacciones laterales cuando la tasa de absorción de luz es mayor que el transporte de electrones (Vass y Aro 2008, Vass 2011). Dichas reacciones generan especies reactivas del oxígeno (ROS) las cuales producen daño oxidativo en el PSII. Alguno de ellos son el superóxido (O_2^-) el radical hidroxilo ($\cdot OH$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) los cuales se producen como resultado del transporte de electrones y el oxígeno singlete (1O_2) como resultado de la transferencia de energía de excitación (Vass, 2011).

Las ROS inhiben la síntesis de proteínas esenciales para la reparación del PSII, lo cual deriva en una disminución de la actividad del mismo, conocida como fotoinhibición. Dichas especies reactivas, tienen un efecto represor en la reparación de PSII fotodañado y no en la aceleración del fotodaño en sí. Por otra parte, estudios recientes revelan factores implicados en la protección de PSII frente a la PI como las enzimas catalasas y peroxidasas al igual que el α - tocoferol, eficaces captadores de H_2O_2 y 1O_2 respectivamente, las cuales actúan a través de la aceleración de la reparación del PSII más que a través de la reducción de la tasa de fotodaño del PSII (Hakala et al., 2005).

El segundo modelo propuesto por Hakala et al. (2005), Ohnishi et al. (2005), establecen que el clúster de Mn^{2+} del complejo partidor de agua asociado al PSII es fotoactivo y puede ser dañado por luz blanca o azul, proyectándose dos situaciones: 1) inactividad del clúster de Mn^{2+} y/o 2) inactivación del centro de reacción del PSII.

4. Respuesta frente al fotodaño

Debido al flujo cíclico de electrones es que el PSI resulta ser más estable frente a la FI en plantas expuestas a fuertes tratamientos de luz en relación al PSII, el cual presenta disminución en rendimiento cuántico, capacidad de transporte de electrones, apagado fotoquímico e incremento del enfriamiento no fotoquímico (Kalaji et al., 2012). Cuando la intensidad de luz azul es baja, se produce la reacción de acumulación, en la que los cloroplastos de las células reúnen una posición a lo largo de las paredes periclinales para aumentar la sección transversal de absorción (posición de cara). Cuando la luz azul es más intensa la planta protege su aparato fotosintético de la sobreexcitación, reordenando los cloroplastos en una posición a lo largo de las paredes anticlinales (de perfil), ubicándose de forma paralela a la luz incidente. Quedando expuestos solo los cloroplastos ubicados en la parte superior (Semer et al., 2018).

Diferentes intensidades de luz absorbidas por las fototropinas ocasionan una reorganización espacial de los cloroplastos dentro de la hoja en cebada. Las hojas expuestas a luz actínica con longitudes de onda superiores a 520 nm sufren una reacción de acumulación de cloroplastos, en contraste con las hojas expuestas a longitudes inferiores, las cuales mostraron un grado diferente de reacción de evitación de cloroplastos (Semer et al., 2018).

Estudios recientes afirmaron que el fotodaño de PSII no es igual en todos los organismos y genotipos (Zavafer, 2021), se realizaron comparaciones en biopelículas de algas para ilustrar cada uno de los mecanismos que actúan en el fotodaño. He et al. (2015), concluyeron que el mecanismo dominante del fotodaño depende de la calidad de luz. Trabajos realizados durante los últimos 15 años, desde el descubrimiento de Hakala et al. (2005), Ohnishi et al. (2005), demostraron que el principal factor que interviene en el fotodaño del PSII es el tipo de longitud de onda. Todos los espectros de acción muestran que cuanto más cerca esté el valor de longitud de onda a la región UV, mayor será el nivel del fotodaño (Zavafer et al., 2015). En la región PAR, la luz azul es particularmente fototóxica, no sólo porque tiene una mayor probabilidad de ser absorbida por el clúster de Mn (Hakala et al. 2005, Ohnishi et al. 2005), sino también que las clorofilas prefieren absorber inicialmente estas longitudes de ondas. Varios autores postulan que existe un límite espectral en el cual empieza a ocurrir el fenómeno de fotoinhibición. Schreiber y Klughammer (2013) demostraron que longitudes de onda menores a 480 nm se genera fototoxicidad, mientras que Karim et al. (2015) sugieren que este límite se da en longitudes de ondas menores a 475 nm. Por otra parte, He et al. (2015) sugieren longitudes de onda menores a 450 nm.

5. Costo energético del fotodaño

Este fenómeno resulta costoso para el organismo, incidiendo directamente en su supervivencia ya que se gasta energía para reparar el PSII y no para los procesos celulares. Se estima que la incidencia global del fotodaño en el PSII ronda los 107 fotones, y el costo para reparar un mol de PSII es de 2827 moles de ATP (Allakhverdiev y Murata, 2004).

E. FOTOPROTECCIÓN

Las plantas han desarrollado diversas formas para evitar daño en los centros de reacción frente a la sobreexcitación. Se pueden distinguir diferentes mecanismos: 1) los que previenen la absorción excesiva de luz, 2) los que disipan como calor la energía absorbida y 3) los que eliminan las especies tóxicas formadas por la sobreexcitación (Semer et al., 2018).

Dentro de los mecanismos que previenen la absorción excesiva están aquellos que implican una reducción de la sección transversal de absorción de la hoja, mediante la acción de evitación del cloroplasto lo cual reduce la probabilidad de absorción de fotones por parte de los pigmentos, aumentando el rendimiento cuántico de la fotoquímica del PSII (Semer et al., 2018).

Uno de los mecanismos de disipación del exceso de energía lumínica es la ruta de Asada (“Asada Pathway”). Esta ruta no solo funciona para disminuir la sobre-reducción del PSI, sino que también genera un gradiente de pH que regula el flujo de

electrones del PSII al PSI (Schreiber et al., 1995). Además de dicha ruta se proponen otros mecanismos de disipación de dicha ruta, como: la disociación funcional entre el complejo antena y el centro de reacción del PSII mediante la fosforilación de proteínas, el ciclo de las xantofilas, el flujo cíclico de electrones alrededor del PSI, la baja regulación de la actividad mediante un gradiente de protones en las membranas tilacoidales y, por último, la degradación de la proteína D1 la cual conforma los centros de reacción (Yordanov y Veleikova, 2000).

La disipación térmica conocida como apagado no fotoquímico (NPQ), es cuando la energía de excitación es eliminada en forma de calor. Este mecanismo presenta un papel importante en la reducción de la generación de ROS mediante la reducción del transporte de electrones hacia el PSII, así como también, pero en menor medida, la protección del PSII contra el fotodaño (Allakhverdiev y Murata, 2004).

1. Efecto de la intensidad lumínica en la fotoprotección

Semer et al. (2018), a partir de estudios de transmitancia, pudieron establecer que la absorción de diferentes intensidades de luz por parte de las fototropinas condujo a una distribución diferencial de cloroplastos dentro de las hojas de cebada. Las longitudes de onda mayores a 520 nm muestran una reacción de acumulación de cloroplastos, mientras que los cloroplastos de hojas expuestas a luz azul experimentaron una reacción de evitación. Dicho reordenamiento puede diferenciarse de los efectos ocasionados por exposiciones a longitudes de onda aún más cortas.

El fenómeno de reducción de la sección transversal de los cloroplastos, el cual lleva al organelo a una posición longitudinal, fue el más prominente como efecto fotoprotector frente a la luz azul, distorsionando de todos modos, la partición de energía del PSII, así como también el Φ_{NPQ} (Semer et al., 2018).

Por otro lado, estudios realizados por He et al. (2015) en dos variedades de cebada, una salvaje y un mutante, donde se reveló la susceptibilidad del PSII a la FI. Concluyeron que la luz azul a radiaciones bajas ($300 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fue más eficiente en provocar FI en el PSII que la luz roja. Con respecto al espectro de luz roja, se necesitaron $1000 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para fotoinactivar el PSII.

F. FLUORESCENCIA DE LAS CLOROFILAS

1. Generalidades

En la etapa fotoquímica de la fotosíntesis, el Φ puede estudiarse a partir de la emisión de fluorescencia de las clorofilas en el PSII (Genty et al., 1989). La emisión de fluorescencia puede determinarse mediante la técnica de modulación de pulso

amplificado (PAM, Kalaji et al. 2014, 2017). Con esta técnica es posible cuantificar la partición energética absorbida por el PSII utilizando el rendimiento cuántico (Φ) del proceso fotoquímico y proceso disipativo. Según Kasajima et al. (2009) la partición de energía del PSII está integrada en tres parámetros:

- Φ_{PSII} rendimiento cuántico de la fotoquímica del PSII.
- Φ_{NPQ} rendimiento cuántico de la fotoquímica regulada de la luz inducida por el apagado no fotoquímico.
- Φ_{NO} rendimiento cuántico de la disipación basal.

La fluorescencia de la clorofila es la luz emitida por estos pigmentos al ser iluminados por radiación PAR (Mc Cree, 1971), y presenta mayor longitud de onda que la radiación absorbida. La intensidad de la fluorescencia es inversamente proporcional a la suma de la fracción de energía utilizada en la fotosíntesis (Kalaji et al., 2017) y de la fracción de energía asociada a los mecanismos de disipación de calor (Krause y Weis, 1991).

En el trabajo realizado por Kalaji et al. (2012) se estudió la eficiencia fotosintética de dos variedades locales de cebada cultivadas bajo diferentes intensidades de luz. Establecieron que el estrés lumínico, tanto a baja como a alta luminosidad, influye negativamente en la actividad del PSII, dependiendo de la duración del estrés y del cultivar a estudiar. Determinaron que el parámetro Φ_{PSII} puede considerarse como buen indicador para detectar el efecto de los cambios de luz en la actividad del PSII.

2. Técnicas de medición

La técnica PAM, es una de las tantas técnicas que permiten medir la fluorescencia de la clorofila de manera no destructiva. El instrumento utilizado se denomina fluorómetro el cual mide el decaimiento de la energía durante la desexcitación de las clorofilas del PSII, tanto en la oscuridad como en la luz (Baker, 2008). Por lo tanto, la metodología del pulso de saturación puede utilizarse para estimar el rendimiento cuántico del PSII en una hoja, ya que a partir de la medición se genera un perfil de curva del que se extraen valores de puntos específicos (Figura 1).

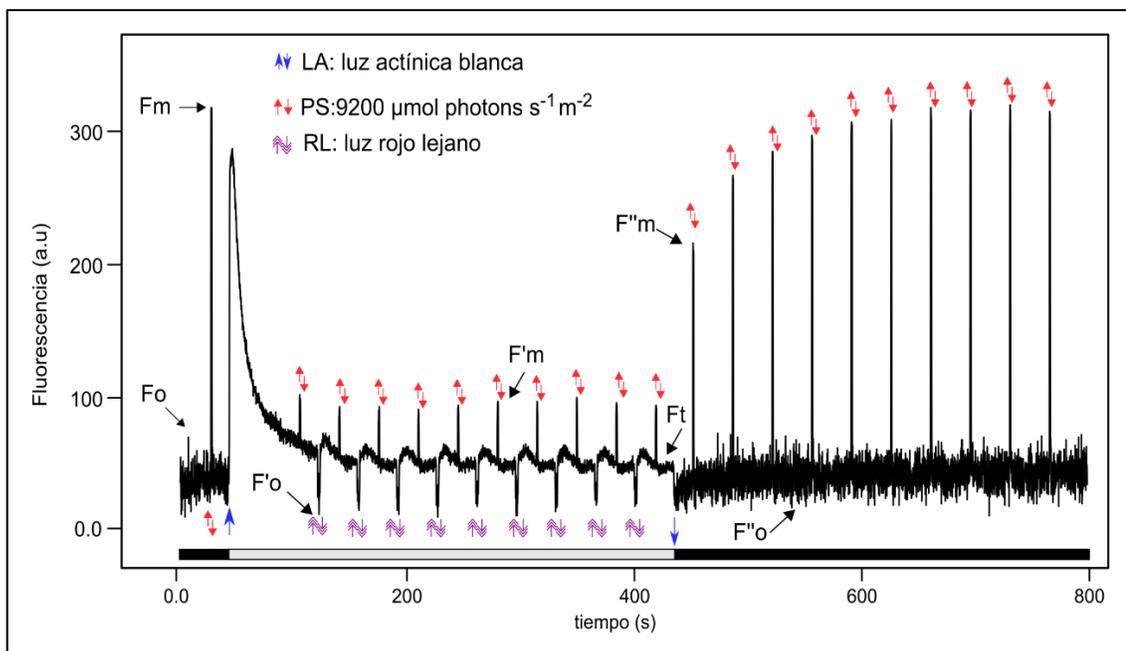
Analizar los parámetros del rendimiento cuántico permite observar cómo se gestiona la energía. Dichos parámetros son dependientes del genotipo, lo cual es una interesante oportunidad para aplicar en dicha variabilidad genotípica, asociaciones cartográficas para identificar genómicas asociadas a la partición de energía de la fotosíntesis. A partir de un enfoque experimental y matemático se determina un índice que estima la energía por flujo de fotones para cada longitud de onda de la luz incidente, llamado índice QI. Basándose en el índice QI, la calidad espectral del crecimiento de las plantas, la incidencia lumínica del ambiente y la luz actínica del pulso de amplitud

modulada (PAM) se mantuvieron cuantitativamente muy similares lo que permitió una estrategia diferencial de fenotipado en arroz (Quero et al., 2021).

Dicha curva se puede fragmentar en tres tramos, en el primer tramo (barra color negro, Figura 1), las hojas están adaptadas a la oscuridad ya que de esta forma las quinonas (Q_A) estarán oxidadas al máximo y los centros de reacción del PSII estarán abiertos lo que significa que están en capacidad de realizar reducciones fotoquímicas de Q_A . Para “limpiar” la cadena de transporte de electrones se utiliza un pulso de luz rojo lejano que excita preferentemente el fotosistema II y remueve electrones de Q_A . El siguiente paso es aplicar un pulso de $0,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el cual produce un nivel mínimo de fluorescencia, fluorescencia basal (F_o), para luego aplicar un pulso hipersaturante de luz actínica mayor a $9000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el cual reduce al máximo la Q_A , obteniéndose el valor de fluorescencia máxima (F_m , Baker, 2008). Se dice que los centros de reacción del fotosistema II están cerrados cuando la Q_A se encuentra reducida. La diferencia entre los parámetros F_o y F_m se denomina F_v y es utilizado para estimar el rendimiento cuántico máximo de la Q_A es decir, el rendimiento fotoquímico potencial del PSII (Maxwell y Johnson, 2000).

El segundo tramo, correspondiente a la barra color gris, se denomina análisis de quenching. Consiste en aplicar luz actínica de manera continua luego del pulso hipersaturante. Siguiendo a esto, al aplicar un pulso hipersaturante, se genera un nuevo punto de fluorescencia máxima ($F'm$) el cual es menor al que se genera en oscuridad, debido a que los centros de reacción en este segundo tramo no están completamente abiertos. Luego se utiliza un pulso de luz rojo lejana lo cual genera un nuevo estado de fluorescencia basal ($F'o$, Lázár, 2015).

El tercer tramo, denominado análisis de relajación, consiste en eliminar la luz actínica e inducir con luz rojo lejano y pulsos saturantes, lo cual promueve la re-oxidación de los aceptores de electrones. En otras palabras, se mide el comportamiento frente a nuevos ciclos de pulsos saturantes en donde se observan máximos y mínimos que se denotan con la nomenclatura $F''m$ y $F''o$ respectivamente (Lázár, 2015).



La primer barra color negro las condiciones son de oscuridad y se aplica pulso saturante, la siguiente barra color gris, corresponde al análisis de quenching donde se enciende la luz actínica (flecha azul hacia arriba), la segunda barra negra indica el análisis de relajación, donde se apaga la luz actínica y comienza el ciclo de pulso saturantes. Flechas rojas (pulso saturante), flechas violetas (pulso de rojo lejano).

Figura 1. Ejemplo de perfil de medición de fluorescencia mediante análisis de quenching y de relajación con fluorómetro PAM

Fuente: adaptado de Quero et al. (2019).

Tal como se mencionó anteriormente, estudios realizados por Araus et al. (1998) en trigo, acerca de cómo se relacionan los parámetros de fluorescencia de la clorofila y el rendimiento del cultivo, resaltan que el ambiente de desarrollo foliar tiene un fuerte efecto sobre el rendimiento, y en todos los parámetros de fluorescencia. También afirma que el efecto genotipo por ambiente solo fue significativo para el rendimiento en grano. Los genotipos de mayor potencial mostraron menor tiempo de incremento medio entre F_0 a F_m , además de una mayor F_0 y F_m , indicando mayor capacidad fotoquímica en el PSII, derivando en mayores rendimientos.

3. Partición de energía

El análisis de la partición de la energía es importante ya que revela el destino de la energía incidente y permite diferenciar los procesos fotoquímicos y disipación, de los

procesos de fotoinhibición (Brestic et al., 2008). Un aspecto interesante del estudio de la partición de la energía mediante la cuantificación del rendimiento cuántico es que la suma de los rendimientos es igual a 1 (Hendrickson et al., 2005). Por lo tanto, cada rendimiento representa una fracción del uso de la energía luminosa en cada proceso y sus valores pueden compararse directamente.

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

Donde Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del PSII y se integra por los subparámetros Φ_{qp} que se relaciona con el grado de apertura de los centros de reacción y Φ_{qs} que se relaciona con el rendimiento potencial del PSII. El Φ_{NPQ} es el rendimiento cuántico de los procesos de disipación regulada no fotoquímico integrado por los subparámetros $\Phi_{NPQfast}$ relacionado a la disipación térmica no fotoquímica regulada y $\Phi_{NPQslow}$ que se relaciona con daño en el PSII causado por la fotoinhibición. Por último el parámetro Φ_{NO} es el rendimiento cuántico de los procesos constitutivos de disipación no reguladora (basal u oscura) no fotoquímica, el cual se compone de los subparámetros $\Phi_{NObasal}$ que se relaciona a la disipación térmica por medio de las estructuras de los centros de reacción y el Φ_{NOPSI} relacionado al complejo antena (Quero et al., 2019).

El resultado del análisis de apagamiento del Φ_{PSII} surge de la ecuación (1) de la (Figura 2, Genty et al., 1989). Φ_{NPQ} y Φ_{NO} , se pueden calcular como se ilustra en la ecuación (2) y (5) respectivamente (Hendrickson et al., 2005). Los rendimientos cuánticos de los componentes rápidos y lentos del apagado no fotoquímico $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$ se desprenden la ecuación (3) y la ecuación (4) respectivamente (Figura 2, Kasajima et al., 2009).

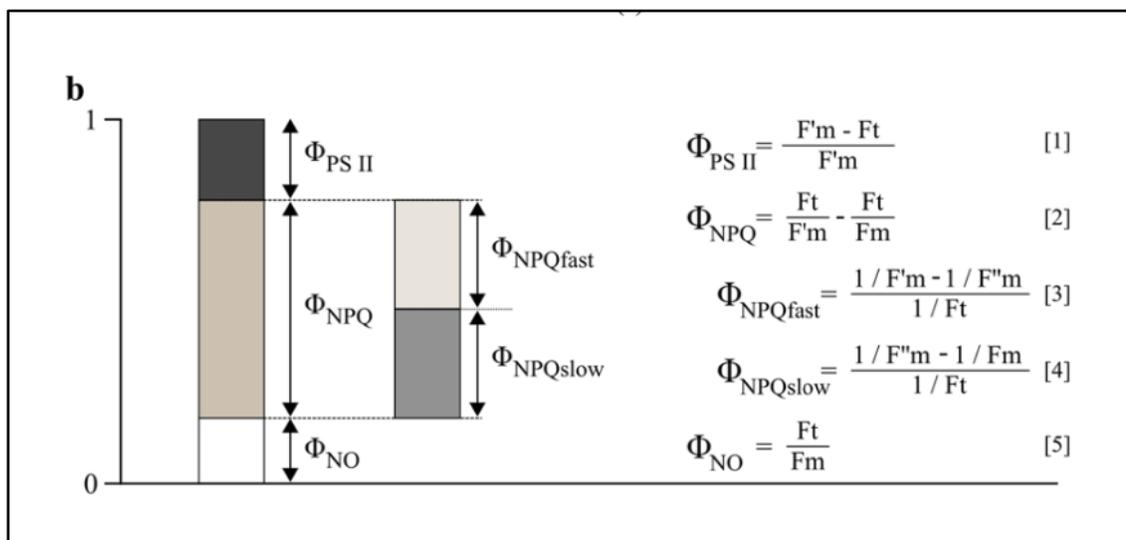


Figura 2. Ecuaciones de la partición de energía, rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}), disipación basal (Φ_{NO}) y disipación no fotoquímica, rápida y lenta (Φ_{NPQfast} y Φ_{NPQslow})

Semer et al. (2018), sostienen que, en cebada, los componentes del Φ_{NPQ} dependen del espectro de acción de la luz, ya que las distintas calidades espectrales que inciden en la hoja penetran con una eficiencia variable. Los carotenoides tienen su máximo de absorción en la región espectral del azul, pero son menos eficientes que las clorofilas en la transferencia de energía a los centros de reacción. Por lo tanto, la exposición a la luz azul deriva en un incremento de la relación entre la luz absorbida y la energía transferida a los centros de reacción, dando como resultado el cierre de los centros de reacción del PSII determinado por el subparámetro Φ_{qp} y disminuyendo en conjunto, el Φ_{PSII} . Concluyeron que la luz con longitudes de onda superiores a 580 nm excita los CR del PSII más eficazmente que la luz con longitudes de onda inferiores a 580 nm.

Como parte del procedimiento del estudio de este trabajo se planteó una serie de hipótesis.

G. HIPÓTESIS

- El ambiente lumínico durante el desarrollo foliar en variedades de cebada repercute diferencialmente en la partición energética en el fotosistema II.
- La partición de energía en el fotosistema II depende del genotipo.
- Existe una interacción genotipo por ambiente lumínico en las diferentes variedades de cebada.

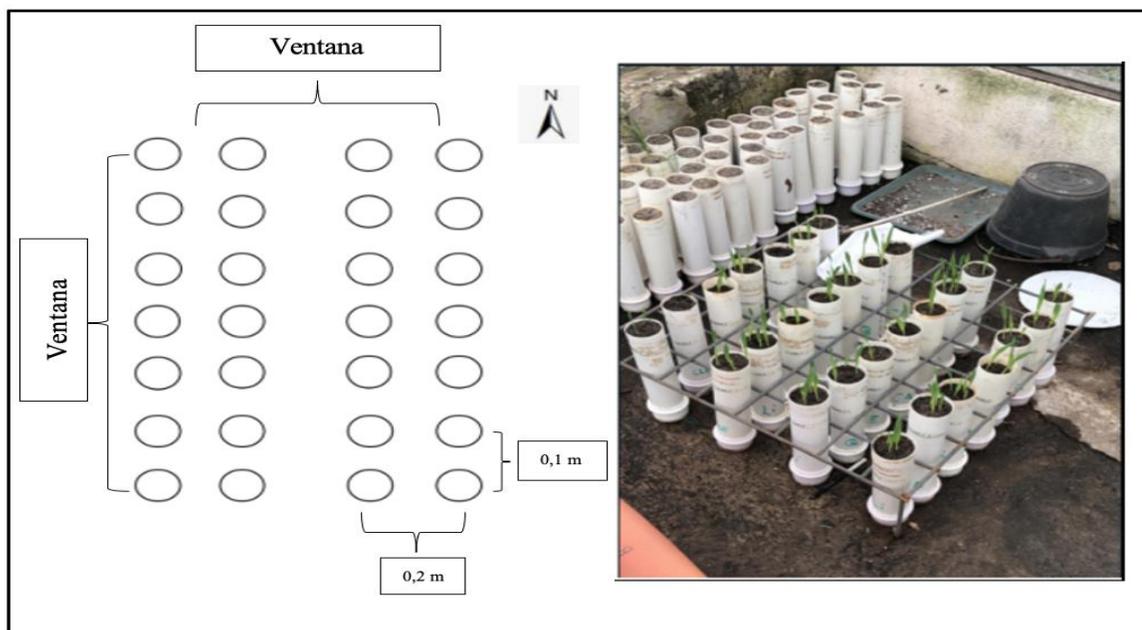
III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. INSTALACIÓN DEL ENSAYO

Se efectuaron cuatro experimentos que variaron en cuanto al ambiente lumínico. Los experimentos se realizaron en el invernáculo del Depto. de Biología Vegetal de Facultad de Agronomía ($34^{\circ} 50'S$, $56^{\circ} 13'W$), bajo un diseño completamente al azar. La unidad experimental quedó definida como una maceta con una planta. La maceta fue de 0,6 L con sustrato mezcla 1:1 de arena y tierra.

El experimento tuvo un total de cuatro ensayos, cada uno con un total de 28 macetas donde crecieron siete genotipos diferentes con cuatro repeticiones cada una. En cada maceta se sembraron cuatro semillas, para poder seleccionar la más apropiada para realizar el experimento. Los genotipos utilizados fueron: Arcadia, Livia, Cle268, Kalena, Norteña Carumbé, Estanzuela Quebracho e INIA Ceibo.

La estrategia experimental consistió en desarrollar la planta hasta un estadio de Z.1.2 (según la escala fenológica de Zadocks) en el invernáculo para luego desarrollar la tercera hoja (Z.1.3) en un ambiente lumínico diferente. Las mediciones de fluorescencia se realizaron en la tercera hoja una vez que apareció la cuarta hoja (Z.1.4).



A la izquierda se observa distribución de las plantas y a la derecha una foto de las mismas dentro del invernáculo.

Figura 3. Croquis de la instalación del ensayo

Hasta el momento de germinación y aparición de la primera hoja las plantas fueron regadas con agua, una vez dividido la primera hoja, se comenzó a regar con solución nutritiva Hoagland (Anexo 1) a razón de 12,5 ml por planta día por medio. Dicho sustrato se formuló en el laboratorio de fisiología vegetal y en el laboratorio de bioquímica (UdelaR. Facultad de Agronomía).

B. FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA

Se midió fluorescencia con fluorómetro de amplitud modulada (PAM, FMS1, Hansatech, King's Lynn, UK). El espectro e intensidad de la luz blanca emitida por dicho aparato fue relevado con un espectroradiómetro (espectrómetro USB 2000+, Ocean Optics, Duiven, Países Bajos). En todas las mediciones con el fluorómetro se midió la tercera hoja completamente desarrollada, ya que se buscó que esta se desarrolle con las características del ambiente lumínico a relevar. La partición de energía del PSII se estimó a partir de los siguientes parámetros:

$$\begin{aligned}\Phi_{\text{PSII}} &= (F_t^{-1} - F'_m)^{-1} / F_t^{-1} \\ \Phi_{\text{NO}} &= (F_m^{-1} - F_t^{-1}) / F_t^{-1} \\ \Phi_{\text{NPQ}} &= (F'_m - F_m) / F_t^{-1} \\ \Phi_{\text{NPQfast}} &= (F'_m - F''_m)^{-1} / F_t^{-1} \\ \Phi_{\text{NPQslow}} &= (F''_m - F_m)^{-1} / F_t^{-1} \\ \Phi_{\text{qp}} &= (F'_m - F_t) / (F'_m - F'_0) \\ \Phi_{\text{qs}} &= (F'_m - F'_0) / (F'_m) \\ \Phi_{\text{NOPSII}} &= (F_t - F'_0) / (F_m) \\ \Phi_{\text{NObasal}} &= (F'_0 / F_m)\end{aligned}$$

C. DETERMINACIÓN DE LA FLUORESCENCIA

Se utilizó tres niveles de flujo de fotones (PPFD) para excitar la clorofila 200, 1000 y 3000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dentro de cuatro ensayos con diferentes ambientes lumínicos.

- Ensayo I – Invernáculo

Este ensayo se sembró el 4/8/2020 y la fluorescencia se midió el 21/8/2020, el desarrollo de estas plantas fue en condiciones de invernáculo, sin modificación alguna del ambiente lumínico, temperatura y humedad promedio de dicho ambiente fue 18°C y 60% respectivamente. El relevamiento energético del ambiente dio como resultado 9792.94 $\mu\text{W cm}^{-2}$, el cual se le asoció un flujo de fotones de 450.27 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un espectro lumínico entre 420 y 650 nm (Figura 4a).

- Ensayo II - LED blanco

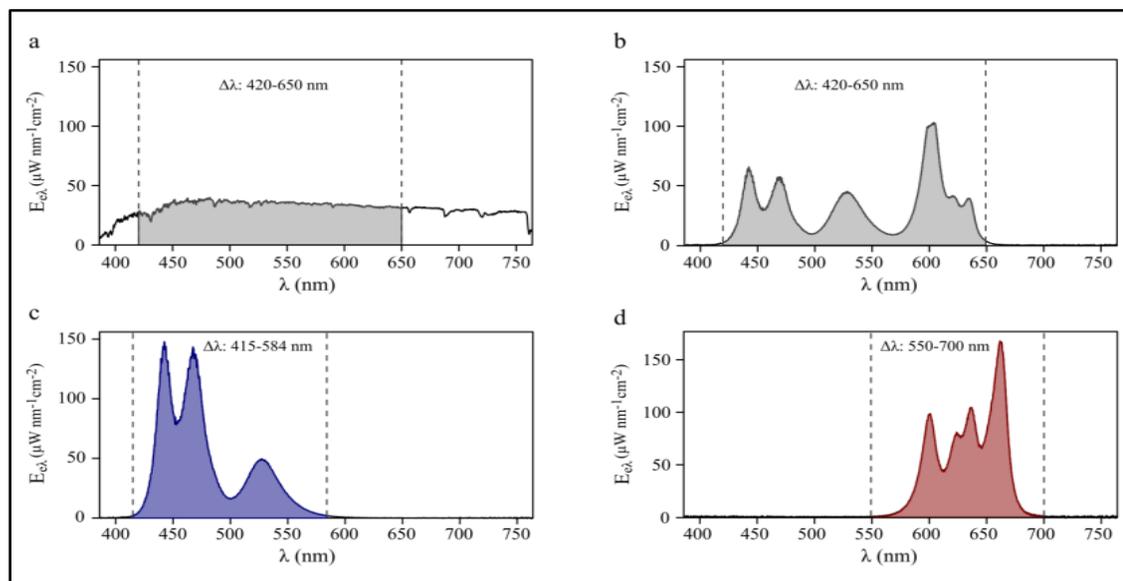
Este ensayo se sembró el 20/8/2020 y la fluorescencia se midió el 5/9/2020. La tercera hoja de dichas plantas (hoja medida), se desarrolló en cámara a 18°C y con 60% de humedad. La calidad espectral estuvo dentro en el rango de 420 a 650 nm, la energía relevada 7480.33 $\mu\text{W cm}^{-2}$ a la cual se le asoció un flujo de fotones de 338.55 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 4b).

- Ensayo III - LED azules

Este ensayo se sembró el 30/8/2020 y la fluorescencia se midió el 15/9/2020. Las condiciones de desarrollo de la tercera hoja a medir abarcaron un espectro de longitud de onda de 415 a 584 nm, con una energía de 7894.32 $\mu\text{W cm}^{-2}$ asociada a un flujo de fotones de 314.57 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 4c). La temperatura y humedad fue idéntica al ensayo anterior.

- Ensayo IV - LED rojos

Este ensayo se sembró el 10/9/2020 y la fluorescencia se midió el 25/9/2020. Las condiciones de desarrollo de la tercera hoja a medir abarcaron un espectro de longitud de onda de 550 a 700 nm, una energía de 7474.32 $\mu\text{W cm}^{-2}$ asociada a un flujo de fotones de 396.57 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 4d). La temperatura y humedad fue idéntica al ensayo anterior.



(E_{λ}) es el flujo de energía espectral. (λ) es la longitud de onda específica. El intervalo de calidad espectral fue determinado con un criterio propio, fundamentado en distinguir claramente cómo responden los diferentes genotipos a los intervalos de longitud de onda de la luz actínica.

Figura 4. Relevamiento del espectro lumínico establecido en cada ensayo. a) Ensayo I (Invernáculo), b) Ensayo II (LED_{blanco}), c) Ensayo III (LED_{azul}), d) Ensayo IV (LED_{rojo})

D. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE DATOS

En cada uno de los cuatro ensayos evaluados se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por genotipo. Para el tratamiento estadístico de los datos se realizó un análisis factorial de las distintas fuentes de variación bajo un modelo lineal general. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + LA_j + AL_k + (G*LA)_{ij} + (G*AL)_{ik} + (LA*AL)_{jk} + (G*LA*AL)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

dónde Y_{ijk} es la variable analizada, G_i son los i -ésimos genotipos evaluados, LA_j son las j -ésimos niveles de luz actínica, AL_k son los k -ésimos ambientes lumínicos evaluados $(G*LA)_{ij}$ es el factor de interacción del i -ésimo genotipo en la j -ésimo nivel de luz actínica $(G*AL)_{ik}$ es el factor de interacción del i -ésimo genotipo en el k -ésimo ambiente lumínico $(LA*AL)_{jk}$ es el factor de interacción de la j -ésimo nivel de luz actínica en el k -ésimo ambiente lumínico $(G*LA*AL)_{ijk}$ es el factor de interacción del i -ésimo genotipo en el j -ésimo nivel de luz actínica en el k -ésimo ambiente lumínico y finalmente ε_{ijk} es el error experimental. Los análisis estadísticos se realizaron usando el software libre R (Anexo 2).

Como análisis general se estudiaron todas las correlaciones posibles entre los parámetros y subparámetros de la fluorescencia de la clorofila. Solo se estudiaron con detalle cuatro correlaciones las cuales se tomaron bajo un criterio propio. Si bien las tres primeras correlaciones planteadas (Φ_{PSII} y Φ_{qp}), (Φ_{NPQ} y $\Phi_{NPQfast}$) y ($\Phi_{NPQfast}$ y Φ_{qp}) tenían en común que todas presentaron alta correlación y baja dispersión de los puntos, la última correlación ($\Phi_{NObasal}$ y Φ_{qp}) fue tomada en base a los resultados del estudio del análisis de varianza, ya que el parámetro $\Phi_{NObasal}$ presentó un valor significativo para una variable en relación a los demás parámetros.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

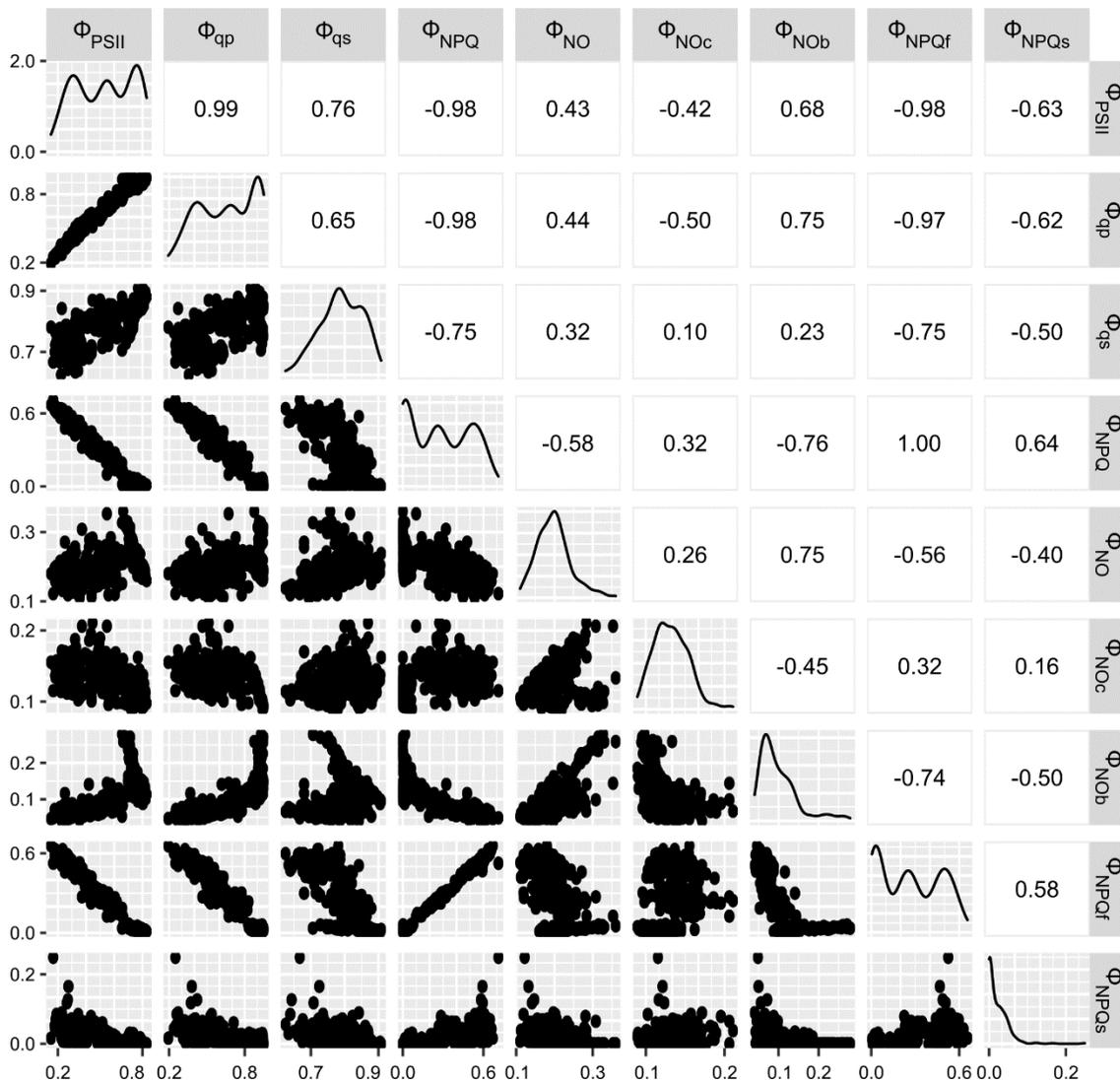
A. CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS DE PARTICIÓN DE ENERGÍA

Contemplando que la sumatoria de los rendimientos cuánticos del PSII da un total de 1, es importante analizar la correlación entre los componentes y subcomponentes de los parámetros de partición de energía en todos los tratamientos evaluados.

Se puede observar numérica y gráficamente la correlación que presentan los distintos parámetros de rendimiento cuántico (Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} , Φ_{NO}) entre sí y con la descomposición de cada uno (Figura 5). A continuación, se destacan las correlaciones más altas (> 0.8) encontradas.

Correlaciones altas > 0.8

- $\Phi_{\text{PSII}} \times \Phi_{\text{NPQ}}$: entre estos dos parámetros existió una alta correlación negativa, con bajo grado de dispersión, es decir, que al disminuir el rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}) aumenta la disipación térmica no basal (Φ_{NPQ}).
- $\Phi_{\text{PSII}} \times \Phi_{\text{qp}}$: existe una correlación lineal positiva, con bajo grado de dispersión, marcando una dependencia entre ambos parámetros, lo que indica que, a mayor proporción de centros de reacción abiertos, mayor será el rendimiento cuántico del PSII.
- $\Phi_{\text{NPQ}} \times \Phi_{\text{NPQfast}}$: refleja cuán dependiente es el resultado de la disipación térmica no basal del componente Φ_{NPQfast} , es decir, el comportamiento de Φ_{NPQ} depende de los mecanismos disipativos regulados del PSII (Φ_{NPQfast}).
- $\Phi_{\text{NPQfast}} \times \Phi_{\text{qp}}$: existe una correlación lineal negativa entre el Φ_{NPQfast} y el qp, lo que significa que a medida que se cierran los centros de reacción, el calor excedente se disipa de una manera regulada a través del ciclo de las xantofilas.
- Analizando los principales parámetros de partición energética (Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} y Φ_{NO}), resalta la clara dependencia entre Φ_{PSII} y Φ_{NPQ} , quedando la disipación térmica basal (Φ_{NO}) como el parámetro más independiente, y menos relacionado con el proceso fotoquímico (Φ_{PSII}).



Sección inferior corresponde a la dispersión de los genotipos para los cuatro ambientes lumínicos y las tres intensidades de flujo de fotones. Sección superior corresponde a la correlación numérica correspondiente a cada grafico de dispersión.

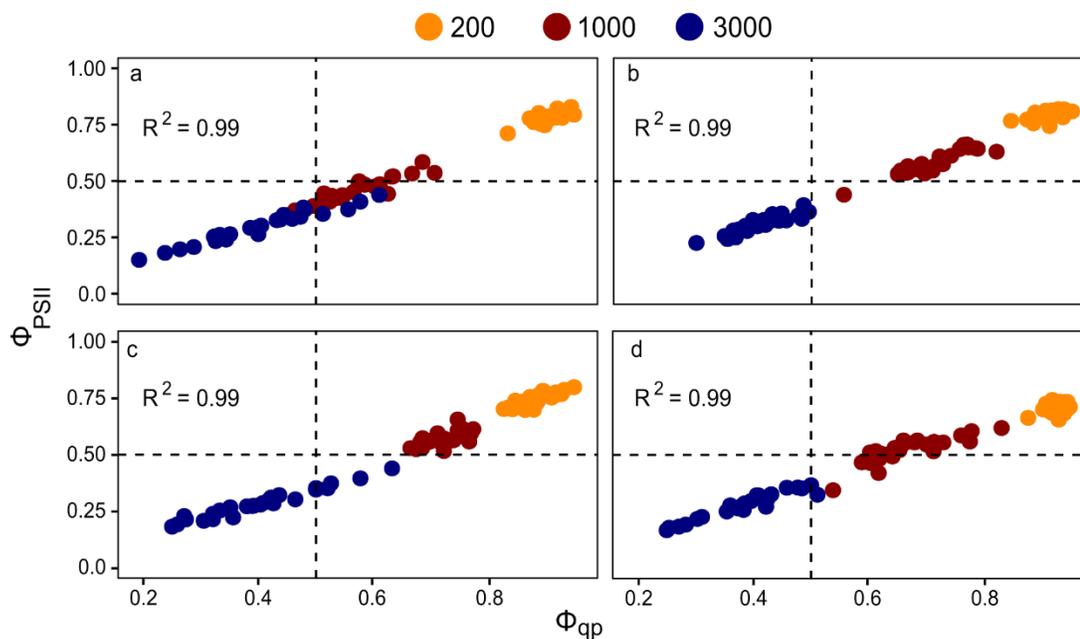
Figura 5. Correlación entre parámetros que componen la fluorescencia

B. EFECTOS DE LAS FUENTES DE VARIACIÓN SOBRE LOS PARÁMETROS DE PARTICIÓN DE ENERGÍA

Una vez efectuado el análisis de varianza según el modelo lineal determinado anteriormente, se observó que, para la mayoría de los parámetros, las fuentes de variación que tuvieron un efecto significativo (valor $p < 0.05$) fueron el ambiente lumínico (AL) y la luz actínica (LA) así como también la interacción de los mismo (AL * LA). Se observó que para el parámetro Φ_{NObasal} , además de tener valores significativos para las fuentes de variación mencionadas anteriormente (AL, LA y AL*LA) también tuvo un efecto significativo el genotipo (G valor $p < 0.05$, Anexo 2).

Contemplando las fuentes de variación que presentaron valores significativos (Anexo 2), y las correlaciones entre los parámetros de partición de energía (Figura 5), se presenta a continuación una serie de graficas en las que se relacionan los parámetros con mayor correlación en función del ambiente lumínico y la luz actínica.

1. Interacción entre ambiente lumínico de desarrollo foliar y la intensidad de la luz actínica, en la correlación de los parámetros de partición de energía

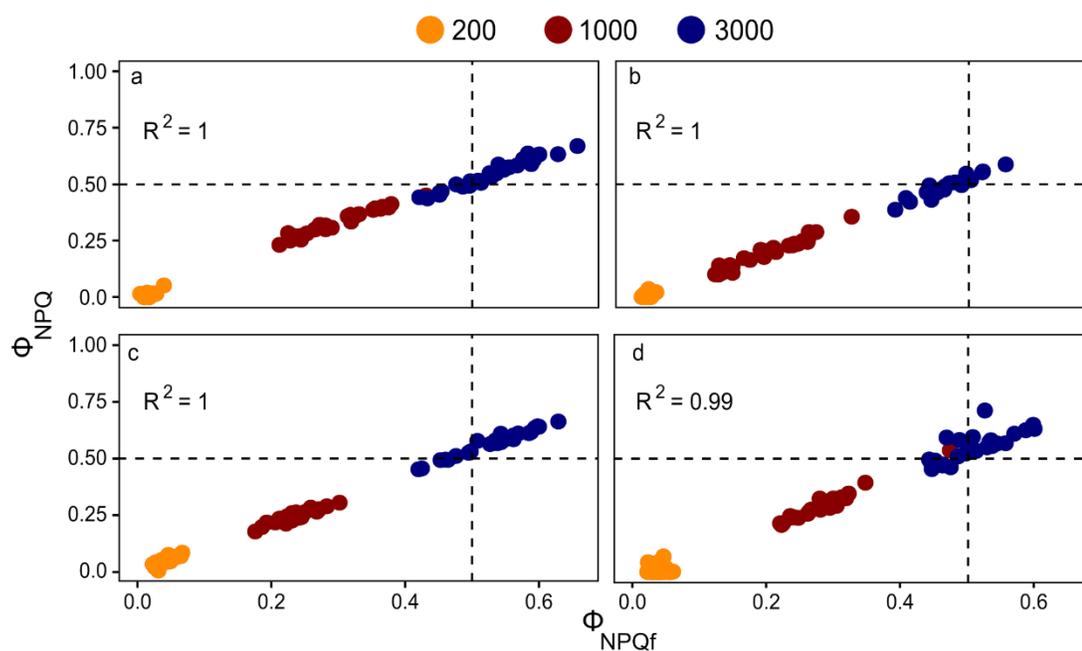


Relación entre rendimiento cuántico del PSII y la apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}) en los cuatro ambientes lumínicos de desarrollo y para los tres tratamientos de luz actínica. a) Ensayo I (Invernáculo), b) Ensayo II (LED_{blanco}), c) Ensayo III (LED_{azul}), d) Ensayo IV (LED_{rojo}).

Figura 6. Correlación de los parámetros PSII y Φ_{qp}

Para los cuatro ambientes de desarrollo se observa una correlación lineal positiva de ambos parámetros, existiendo dependencia entre ellos. A medida que los centros de reacción son excitados con mayor flujo de fotones, comienzan a cerrarse, repercutiendo de forma directa en el rendimiento cuántico del PSII. Al aumentar el flujo de luz actínica se observa como los puntos pasan del cuadrante superior (mayor a 50%), al cuadrante ubicado por debajo del 50% para ambos parámetros.

Se observa, además, una dispersión diferencial entre los diferentes tratamientos con luz actínica, lo cual resalta que para el tratamiento con 3000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ existe una respuesta diferencial entre los genotipos, ocurriendo en menor medida para 1000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no así, para el tratamiento con 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, el cual se observa una menor dispersión.

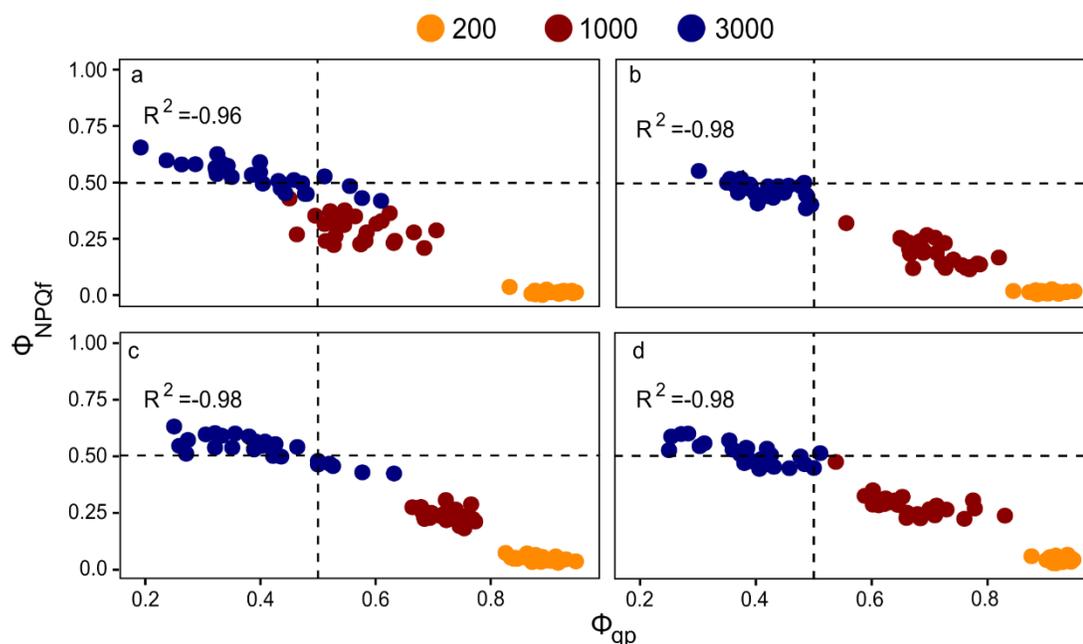


Relación entre el rendimiento cuántico de la disipación térmica no basal y el subcomponente $\Phi_{NPQfast}$, en cuatro ambientes lumínicos de desarrollo y para tres tratamientos de luz actínica. a) Ensayo I (Invernáculo), b) Ensayo II (LED_{blanco}), c) Ensayo III (LED_{azul}), d) Ensayo IV (LED_{rojo}).

Figura 7. Correlación entre los parámetros Φ_{NPQ} y $\Phi_{NPQfast}$

Para los cuatro ambientes lumínicos de desarrollo, se observa una correlación lineal positiva. En medida que el flujo de luz actínica aumenta, ambos parámetros también los hacen, es decir, aumenta la disipación térmica no basal (Φ_{NPQ}), dejando en evidencia la dependencia con el parámetro Φ_{NPQfast} .

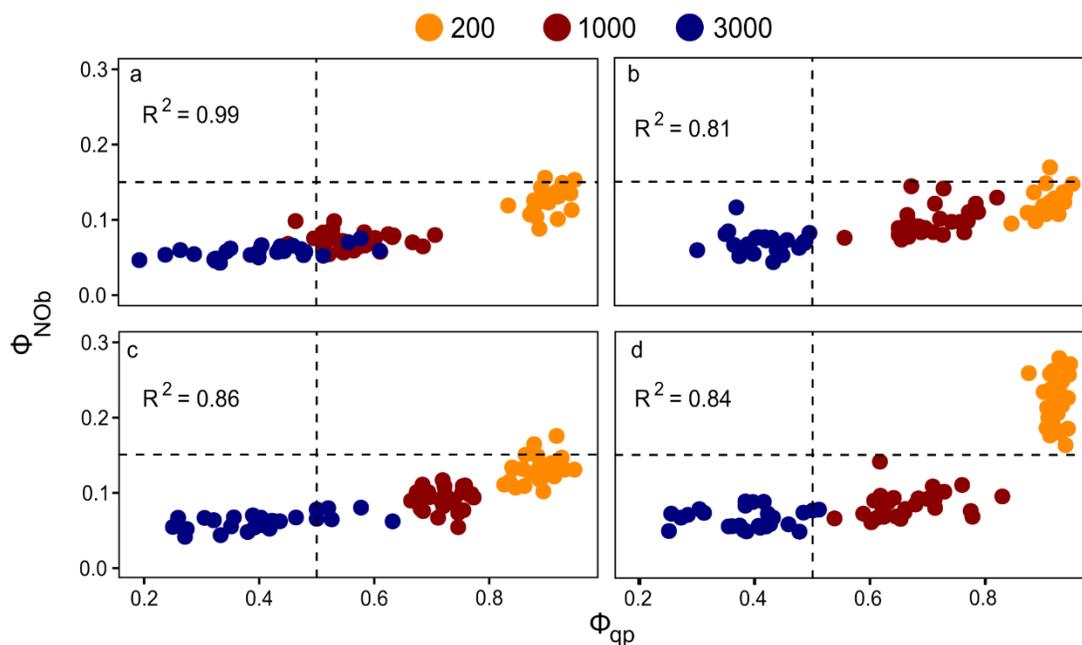
A baja intensidad ($200 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$), no existe diferenciación entre genotipos. En los tratamientos con mayor intensidad, existe diferenciación genotípica, así como también se expresa la tolerancia a niveles elevados de irradiancia, llegado a máximos del 75% de disipación basal regulada.



Relación entre el rendimiento cuántico de la disipación térmica no basal rápida (Φ_{NPQfast}) y el subcomponente de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}), en cuatro ambientes lumínicos de desarrollo y para tres tratamientos de luz actínica. a) Ensayo I (Invernáculo), b) Ensayo II ($\text{LED}_{\text{blanco}}$), c) Ensayo III (LED_{azul}), d) Ensayo IV (LED_{rojo}).

Figura 8. Correlación de los parámetros Φ_{NPQfast} y Φ_{qp}

Se observa como a medida que aumenta el flujo de fotones, los centros de reacción se cierran, aumentando la disipación térmica no basal rápida de manera regulada. A su vez a mayor flujo, mayor es el intervalo en el cual se dispersan los puntos, indicando un comportamiento diferencial entre los genotipos. El calor disipado de manera regulada depende del grado de apertura de los centros de reacción.



Relación entre el rendimiento cuántico de la disipación térmica basal y el sub-componente de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}), en cuatro ambientes lumínicos de desarrollo y para tres tratamientos de luz actínica. a) Ensayo I (Invernáculo), b) Ensayo II (LED_{blanco}), c) Ensayo III (LED_{azul}), d) Ensayo IV (LED_{rojo}).

Figura 9. Correlación de los parámetros $\Phi_{NO\text{ basal}}$ y Φ_{qp}

Observando y comparando los parámetros presentes en dichas gráficas, resalta el bajo porcentaje del parámetro $\Phi_{NO\text{ basal}}$, llegando a como máximo, a un 30% del rendimiento cuántico del PSII. En ambiente de invernáculo, led blanco y azul, los valores de $\Phi_{NO\text{ basal}}$ son menores al 15%, pero en ambiente de led rojo estos valores superan el 15% llegando a máximos de 30%.

Altos niveles de irradiancia no alteran la disipación basal. Existe diferenciación entre genotipos dentro del parámetro de disipación basal; el cual depende del ambiente lumínico de desarrollo.

2. Interacción entre ambiente lumínico de desarrollo foliar y los genotipos en la correlación de los parámetros de partición de energía

a. Ambiente lumínico: invernáculo

Todos los genotipos en el ambiente de invernáculo el parámetro $\Phi_{NPQ\text{fast}}$ tienen correlación alta y negativa, con los parámetros Φ_{qp} , Φ_{qs} y $\Phi_{NO\text{ basal}}$, oscilando dichos

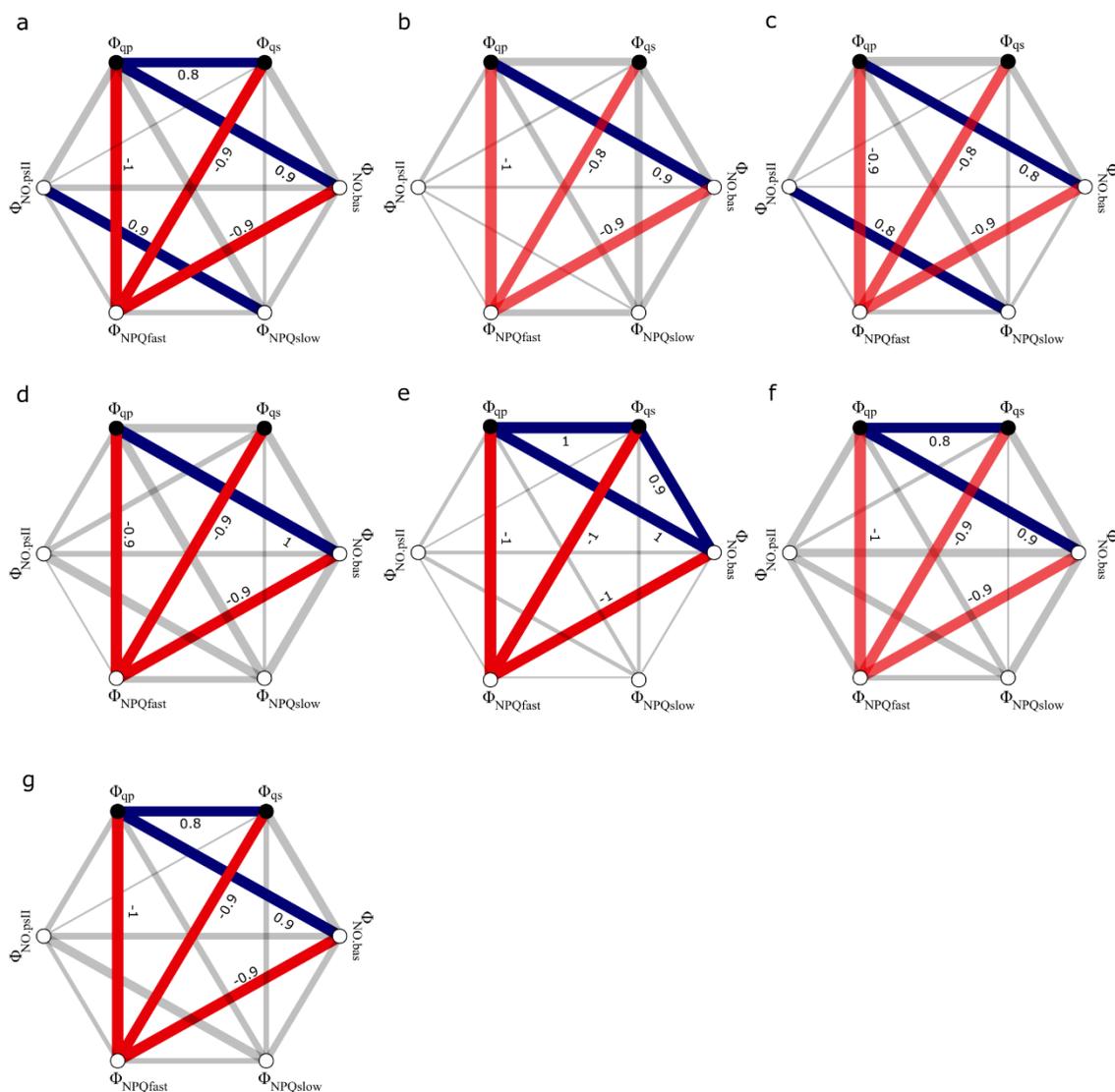
valores entre -0.8 y -1. Esto sucede porque, tanto al disminuir el grado de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}), y el rendimiento potencial del fotosistema (Φ_{qs}) por elevado flujo de fotones, la energía excedente se disipa de manera regulada ($\Phi_{NPQfast}$). Con respecto a la correlación $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NO\text{ basal}}$, establece que la energía que no se disipa basalmente por medio de la estructura de los centros de reacción, se disipa de manera regulada.

Con respecto a las correlaciones altas y positivas se observa que la relación entre Φ_{qp} y $\Phi_{NO\text{ basal}}$ se mantiene en todos los genotipos. Indicando dependencia entre el grado de apertura de los centros de reacción y la composición estructural de los centros de reacción del PSII.

Solo Arcadia y Ceibo presentan correlación alta y positiva para los parámetros $\Phi_{NPQslow}$ y Φ_{NOPSII} . Lo cual estaría indicando que estos genotipos presentan mayor sensibilidad al exceso lumínico que el resto de los genotipos.

Los genotipos Arcadia, Kalena, Quebracho y Livia, mantienen una correlación positiva para los parámetros Φ_{qp} y Φ_{qs} , implicando que el grado de apertura de los centros de reacción depende del rendimiento potencial del PSII, mientras que en los demás genotipos no se encuentra dicha asociación.

Por último se observa que para el genotipo Kalena, el rendimiento cuántico potencial del PSII se asocia también al grado de disipación térmica basal de las estructuras de los centros de reacción, lo cual no sucede en ninguno de los demás genotipos (Figura 10).



Correlación del flujo de energía entre los parámetros analizados para los siete genotipos de cebada desarrollados en invernáculo. Líneas azules (correlaciones positivas mayores a 0.75), líneas rojas (correlaciones negativas menores a -0.75), líneas grises (correlaciones menores a $|0.75|$). a) Arcadia, b) Carumbé, c) Ceibo, d) Cle 268, e) Kalena, f) Livia, g) Quebracho.

Figura 10. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en invernáculo

b. Ambiente lumínico: LED blanco

Todos los genotipos presentan correlación alta y negativa entre el parámetro $\Phi_{NPQfast}$ y los parámetros Φ_{qp} , Φ_{qs} , al igual que en el ambiente de invernáculo. Sin embargo, la correlación positiva que se observó entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NObasal}$, para todos los genotipos en el ambiente de invernáculo, en este ambiente se observó solo para la mayoría de los genotipos, en Quebracho, la correlación no superó el umbral establecido ($|0.75|$).

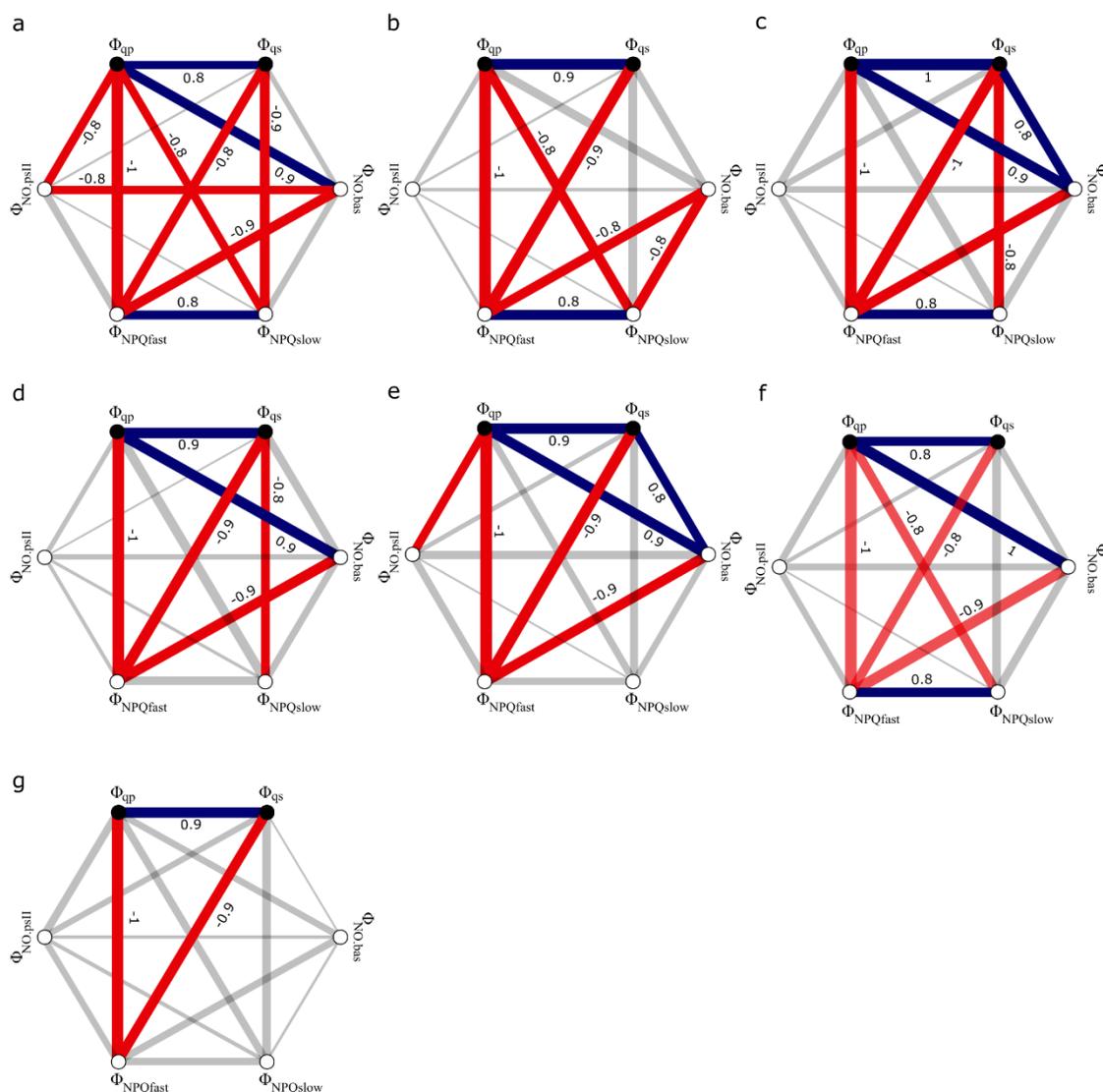
Carumbé, Arcadia y Livia presentan relación negativa entre Φ_{qp} y $\Phi_{NPQslow}$, lo que implica que a medida que disminuye el grado de apertura de los centros de reacción por exceso de energía, ésta se disipa de forma no regulada provocando fotodaño.

Arcadia, Ceibo y Cle268 presentan relación negativa entre Φ_{qs} y $\Phi_{NPQslow}$, lo que indica el rendimiento potencial de su fotosistema disminuye sensiblemente frente al fotodaño, indicando un precario mecanismo de fotoprotección.

Arcadia y Kalena presentan relación negativa entre Φ_{qp} y Φ_{NOPSII} , indicando que a medida que disminuye el grado de apertura de los centros de reacción debido al alto flujo energético, dicho exceso es disipado por la estructura del PSII.

Ceibo y Kalena presentan correlación positiva entre los parámetros Φ_{qs} y $\Phi_{NObasal}$ esto significa que el rendimiento cuántico potencial del PSII depende de la estructura de los centros de reacción, implicando que al aumentar la disipación térmica basal aumenta también el rendimiento cuántico potencial.

En este ambiente se observa que existe mayor diferencia en los procesos de partición de energía entre los genotipos, en comparación con el ambiente de invernáculo, donde Arcadia es el genotipo que presenta mecanismos más complejos, y Quebracho más simple (Figura 11).



Correlación del flujo de energía entre los parámetros analizados para los siete genotipos de cebada desarrollados en invernáculo. Líneas azules (correlaciones positivas mayores a 0.75), líneas rojas (correlaciones negativas menores a -0.75), líneas grises (correlaciones menores a |0.75|). a) Arcadia, b) Carumbe, c) Ceibo, d) Cle 268, e) Kalena, f) Livia, g) Quebracho.

Figura 11. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en ambiente led blanco

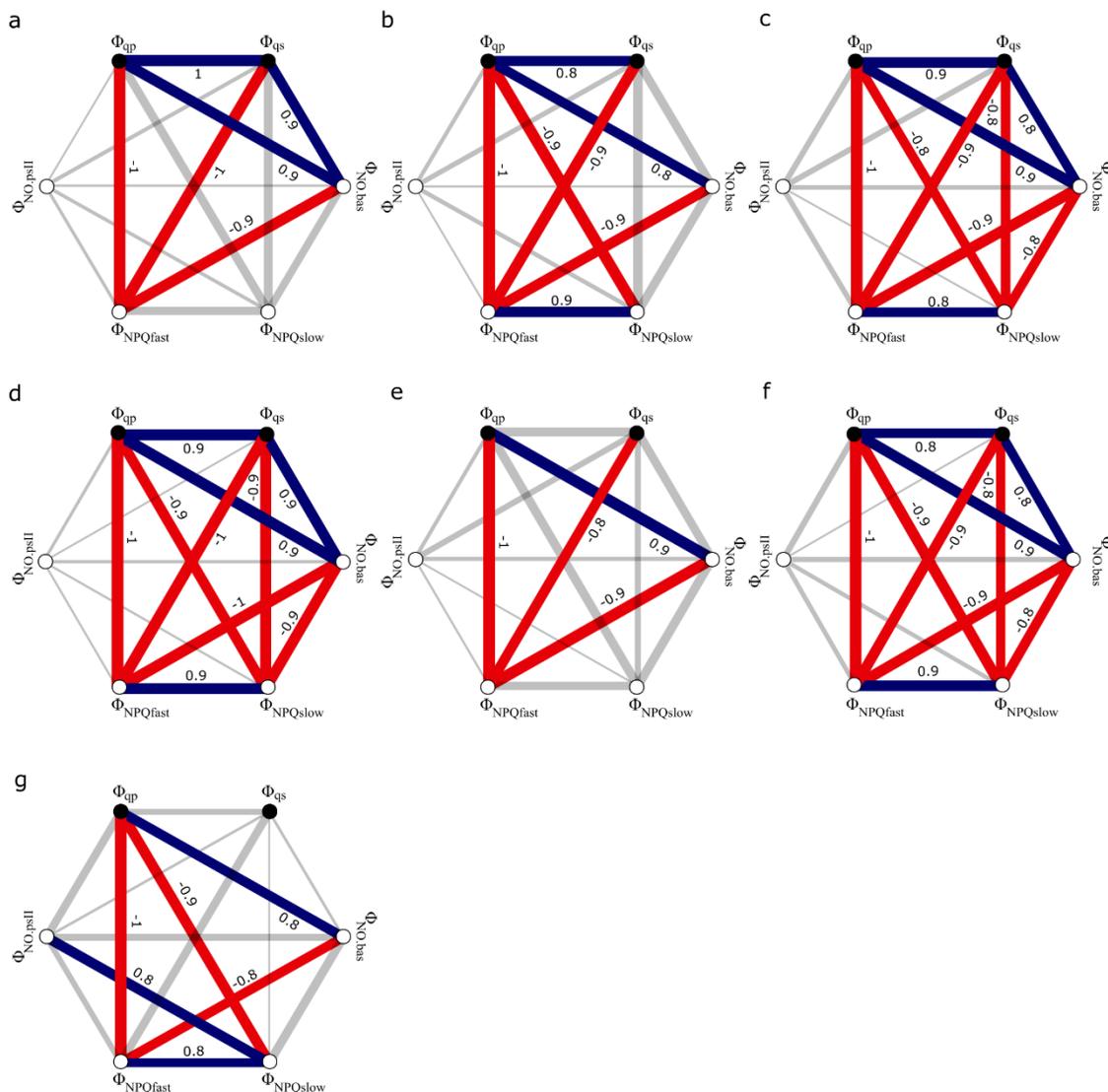
c. Ambiente lumínico: LED azul

Los genotipos Ceibo, Cle268 y Livia, tienen el mismo comportamiento correlativo entre sus parámetros de flujo de energía. Se destaca una correlación negativa entre los parámetros $\Phi_{NPQslow}$ y $\Phi_{NObasal}$ la cual solo se expresó en el genotipo Carumbe bajo led blanca. Lo que implica que la energía que no puede ser disipada estructuralmente, genera daño estructural en el fotosistema, dejando en evidencia la baja respuesta frente al fotodaño en comparación a los demás genotipos.

Se sigue manteniendo la correlación negativa anteriormente descrita en los demás ambientes entre los parámetros $\Phi_{NPQfast}$ y los parámetros Φ_{qp} , Φ_{qs} y $\Phi_{NO basal}$.

Carumbe, Ceibo, Cle268, Livia y Quebracho tienen correlación negativa entre los parámetros Φ_{qp} y $\Phi_{NPQslow}$, lo que significa que los centros de reacción se cierran debido al alto flujo de fotones incidentes, repercutiendo en un exceso de energía la cual no puede ser disipada ni basal, ni reguladamente, generando daño en el fotosistema.

En relación a las correlaciones positivas se observa que el genotipo Quebracho es el único que, al aumentar su disipación térmica basal bajo condiciones de luz azul, aumenta también el daño en su fotosistema (Figura 12)



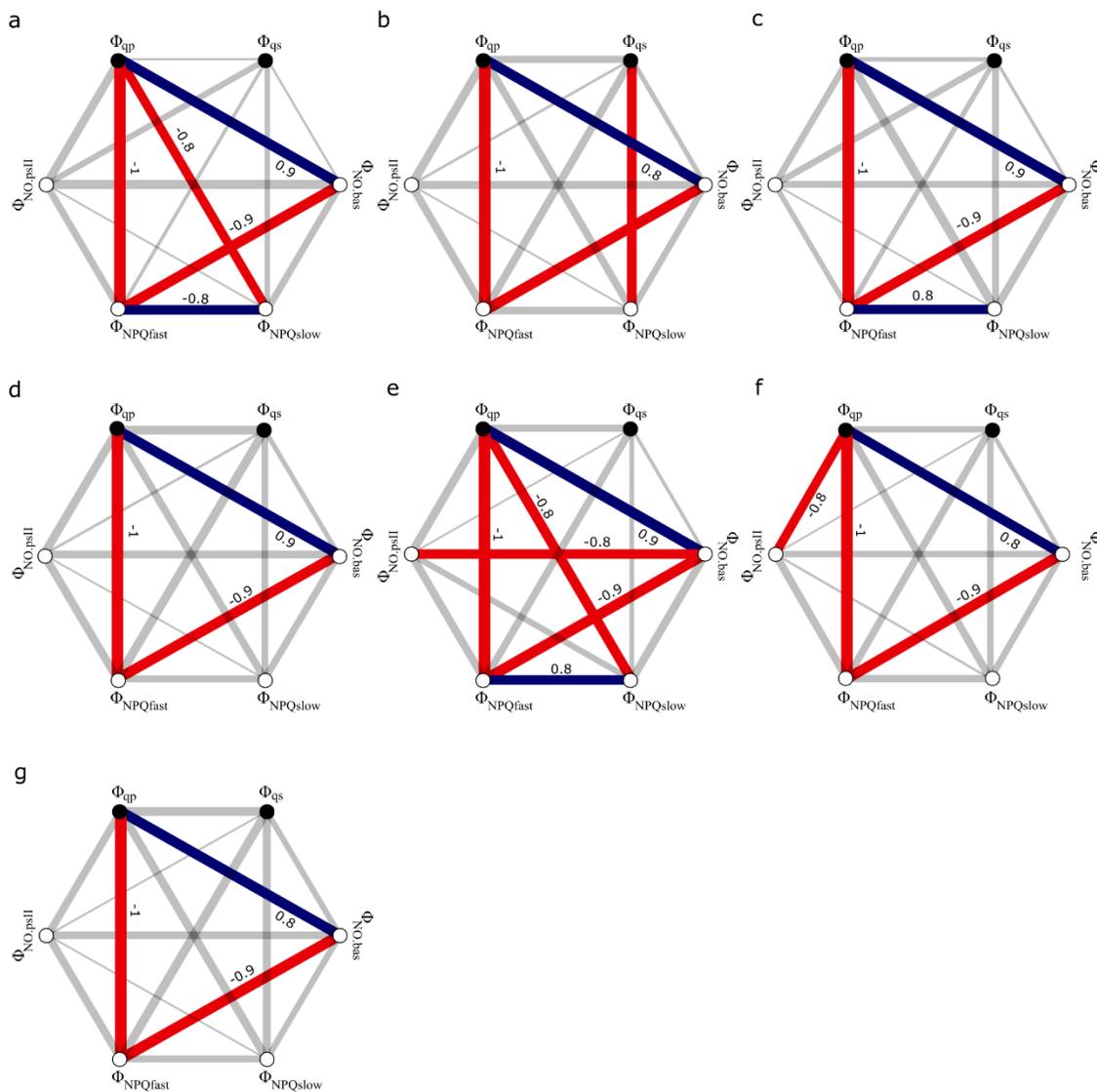
Correlación del flujo de energía entre los parámetros analizados para los siete genotipos de cebada desarrollados en invernáculo. Líneas azules (correlaciones positivas mayores a 0.75), líneas rojas (correlaciones negativas menores a -0.75), líneas grises (correlaciones menores a |0.75|). a) Arcadia, b) Carumbe, c) Ceibo, d) Cle 268, e) Kalena, f) Livia, g) Quebracho.

Figura 12. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en ambiente led azul

d. Ambiente lumínico: LED rojo

Todos los genotipos presentan correlación negativa entre Φ_{qp} y $\Phi_{NPQfast}$, y entre $\Phi_{NO\text{ basal}}$ y $\Phi_{NPQfast}$ lo que establece que a medida que el excedente de energía aumenta, el aparato fotosintético de cada genotipo disipa dicha energía de manera regulada. Los genotipos Arcadia, Kalena y Ceibo son los que presentan menor capacidad de fotoprotección debido a que a medida que el excedente de energía aumenta, si bien pueden, en cierto grado, disipar de manera regulada, llega un punto donde se comienza a dañar el fotosistema, esto se observa en la correlación positiva entre $\Phi_{NPQfast}$ y $\Phi_{NPQslow}$

El genotipo Livia presenta una correlación negativa para los parámetros Φ_{qp} y Φ_{NOPSII} , estableciendo que a medida que disminuye el grado de apertura de los centros de reacción por un excedente de energía, la disipación del fotosistema no solo es de manera regulada como se mencionó en el párrafo anterior, sino también disipa de manera basal (Figura 13).



Correlación del flujo de energía entre los parámetros analizados para los siete genotipos de cebada desarrollados en invernáculo. Líneas azules (correlaciones positivas mayores a 0.75), líneas rojas (correlaciones negativas menores a -0.75), líneas grises (correlaciones menores a |0.75|). a) Arcadia, b) Carumbe, c) Ceibo, d) Cle 269, e) Kalena, f) Livia, g) Quebracho.

Figura 13. Flujo de energía para los siete genotipos de cebada en ambiente led rojo

Tomando como punto de partida la intensidad del flujo lumínico, se observa, al igual que en estudio realizado por Kalaji et al. (2012), que, altas intensidades lumínicas influyen de manera negativa en la actividad del PSII, disminuyendo el Φ_{PSII} . En relación a la calidad del espectro lumínico, se destaca que bajo LED azul es donde se genera en mayor proporción, daño en el PSII, disminuyendo el Φ_{PSII} , concordando dichos resultados con los obtenidos por Semer et al. (2018), quienes enfatizan la baja eficiencia que tienen las longitudes de onda menores a 580 nm sobre los centros de reacción. Dicho resultado se sostiene, además, por lo anteriormente mencionado por He et al. (2015), los cuales postulan que la luz en el espectro del azul, aun así, a bajas intensidades, es más eficiente en provocar fotoinactivación del PSII debido a que presenta mayor energía que en el espectro de rojos, mientras que en este último se necesitan intensidades de aproximadamente $1000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para provocar daño. A su vez esto puede relacionarse con lo establecido por Hakala et al. (2005), quienes postulan que la luz azul tiene mayor probabilidad de ser absorbida por el clúster de Mn, y mayor preferencia por las clorofilas inicialmente.

Arcadia y Kalena presentaron el mejor comportamiento frente al exceso de energía en el ambiente LED azul, disipando toda la energía excedente de manera regulada. A su vez, fueron los únicos en los que se presentó daño bajo LED rojo, relacionado al grado de apertura de los centros de reacción. Estos cultivares, de alto potencial, presentan mecanismos regulatorios de disipación regulada para espectros de luz en el rango de los azules, pero también son sensible a altas intensidades de flujo en el espectro del rojo. Lo que no lleva a pensar, que, el mayor potencial se expresa en los cultivares que toleran altas intensidades bajo luz azul.

Los restantes cultivares de alto potencial, Livia y Cle 268, no presentaron ninguna particularidad en su partición de energía en relación a los testigos históricos. Su mayor desempeño en rendimiento puede que no se condicione con su potencial fotoquímico.

V. CONCLUSIONES

Observando el análisis de varianza se establece que, para las diferentes variedades de cebada, el ambiente lumínico de desarrollo foliar, la intensidad de luz actínica y la interacción entre los mismos repercute diferencialmente en todos los parámetros de partición de energía en el PSII. Solo para el parámetro de disipación térmica basal ($\Phi_{NO\text{basal}}$) en ambiente de LEDrojo y bajos niveles de flujo fotónico ($200 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) presentó efecto significativo en el genotipo. Concluyendo que solo el parámetro $\Phi_{NO\text{basal}}$ es genotipo dependiente (Figura 9d, Anexo 2).

Los grafos para cada genotipo difieren uno del otro en un mismo ambiente, así como también, para un mismo genotipo, son diferentes en cada ambiente. Si bien no se demuestra mediante un análisis numérico la hipótesis de que la partición de energía en el PSII es genotipo dependiente y que existe una interacción genotipo por ambiente lumínico en cebada, se podría llegar a aceptar ambas hipótesis (Figura 10 a 13).

1. Se observó que la energía que se destina a la fase fotoquímica (Φ_{PSII}) podría tener dependencia del grado de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}). Por otro lado, al estudiar la partición de energía de cada genotipo en los distintos ambientes, se observó que, el Φ_{qp} se correlacionó con más parámetros de la partición de energía que el otro componente del Φ_{PSII} .
2. Para todos los genotipos en los cuatro ambientes de desarrollo, y para los tres niveles de flujo de fotones, el grado de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}) depende de la conformación estructural de los centros de reacción ($\Phi_{\text{NO basal}}$).
3. Para todos los genotipos, en los cuatro ambientes de desarrollo, y para los tres niveles de luz actínica, el exceso de energía se disipó mayormente, de forma regulada (correlación entre Φ_{qp} y Φ_{NPQfast}).
4. En el ambiente de desarrollo LED azul, es donde aparentemente, se observó mayormente el fenómeno de fotodaño relacionado no solo al grado de apertura de los centros de reacción, sino también al rendimiento potencial del PSII (Φ_{qp} y Φ_{NPQslow}) y (Φ_{qs} y Φ_{NPQslow}).
5. En el ambiente LED rojo el rendimiento potencial del PSII (Φ_{qs}), parece no depender de la disipación térmica regulada (Φ_{NPQfast}), ni tampoco del grado de apertura de los centros de reacción (Φ_{qp}), como ocurre en los demás ambientes.

6. Dentro de los genotipos de alto potencial, Arcadia y Kalena parecen destacarse por su mejor comportamiento frente al exceso de energía en ambiente de LED azul en relación a los demás genotipos.

VI. RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar la respuesta de la actividad fotosintética en plantas de cebada, desarrolladas en diferentes ambientes lumínicos. Se utilizaron siete genotipos de cebada, los cuales se dividieron en dos grupos, los de alto potencial (Arcadia, Kalena, Cle 268 y Livia) y los testigos históricos (Quebracho, Carumbé y Ceibo) los cuales se germinaron y desarrollaron hasta la segunda hoja en invernáculo. Luego, una vez desarrollada la segunda hoja, se trasladaron a diferentes ambientes lumínicos para que, en dicho ambiente, se desarrolle la tercera hoja. Una vez desarrollada la tercera hoja en el ambiente a evaluar, se midió la partición de la energía mediante fluorescencia de la clorofila con método PAM (pulso de amplitud modulada). Se utilizaron cuatro ambientes lumínicos de desarrollo con la misma potencia, pero diferente calidad espectral (invernáculo, LED blanco, LED azul y LED rojo), y tres intensidades de luz actínica (200, 1000, y 3000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La partición de energía se calculó en base a tres parámetros principales (Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} , Φ_{NO}) y sus correspondientes subparámetros (Φ_{qp} y Φ_{qs} ; Φ_{NPQFast} y Φ_{NPQSlow} ; $\Phi_{\text{NO.basal}}$ y $\Phi_{\text{NO.psII}}$), los cuales fueron extraídos del perfil de medición de la fluorescencia. Los resultados obtenidos fueron que el rendimiento cuántico del PSII depende del grado de apertura de los centros de reacción y no del rendimiento potencial del PSII. Altas intensidades de luz actínica provocaron disipación térmica de manera regulada, pero en el ambiente de LED azul la partición de energía se asoció al parámetro Φ_{NPQslow} en mayor grado, indicando daño en el fotosistema. Los genotipos Kalena y Arcadia presentaron una partición de la energía más compleja que los demás genotipos en el ambiente LED rojo. Contrariamente a lo que ocurre en el ambiente LED azul, en el cual, dichos genotipos presentaron menor complejidad en su partición energética respecto de los otros genotipos y no se expresó el fenómeno de fotodaño. Es por ello que se confirmó que, el ambiente lumínico durante el desarrollo foliar en cebada repercute en la partición de energía en el fotosistema II y siendo ésta genotipo dependiente. Ningún genotipo se comportó de igual forma en los diferentes ambientes, dejando en evidencia la existencia de la interacción genotipo por ambiente lumínico en la partición de energía durante los primeros procesos de la fotosíntesis.

Palabras clave: Cebada; Genotipos; Ambiente lumínico; Partición de energía.

VII. SUMMARY

The objective of this work was to evaluate the response of photosynthetic activity in barley plants grown in different light environments. Seven barley genotypes were used, which were germinated and developed to the second leaf in greenhouses. Then, once the second leaf developed, they were transferred to different light environments to develop the third leaf in that environment. Once the third leaf developed in the environment to be evaluated, energy partitioning was measured by chlorophyll fluorescence using the PAM (pulse amplitude modulated) method. Four light development environments were used with the same power, but different spectral quality (greenhouse, white LED, blue LED and red LED), and three intensities of actinic light (200, 1000, and 3000 mol photons m⁻² s⁻¹). The energy partitioning was calculated based on three main parameters (Φ_{PSII} , Φ_{NPQ} , Φ_{NO}) and their corresponding subparameters (Φ_{qp} and Φ_{qs} ; $\Phi_{NPQfast}$ and $\Phi_{NPQslow}$; $\Phi_{NObasal}$ and Φ_{NOpsII}), which were extracted from the fluorescence measurement profile. The results obtained were that the quantum yield of PSII depends on the degree of opening of the reaction centers and not on the potential yield of PSII. High intensities of actinic light caused thermal dissipation in a regulated manner, but in the blue LED environment energy partitioning was associated with the $\Phi_{NPQslow}$ parameter to a greater degree, indicating photosystem damage. The Kalena and Arcadia genotypes presented a more complex energy partitioning than the other genotypes in the red LED environment. Contrary to what occurs in the blue LED environment, in which these genotypes presented less complexity in their energy partitioning compared to the other genotypes and the photodamage phenomenon was not expressed. Therefore, we confirm that the light environment during leaf development in barley has an effect on energy partitioning in photosystem II and that it is genotype dependent. No genotype behaved in the same way in the different environments, showing the existence of a genotype by light environment interaction in energy partitioning during the first processes of photosynthesis.

Key words: Barley; Genotypes; Light environments; Energy partition.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Allakhverdiev, S.; Murata, N. 2004. Environmental stress inhibits the synthesis de novo of proteins involved in the photodamage repair cycle of photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochimica Biophysica Acta*. 1657:23-32.
2. _____.; Mohanty, P.; Nishiyama, Y.; Murata, N. 2007. Glycinebetaine alleviates the inhibitory effect of moderate heat stress on the repair of photosystem II during photoinhibition. *Biochimica Biophysica Acta*. 1767:1363-1371.
3. Alves, P.; Magalhaes, A.; Barja, P. 2002. The phenomenon of photoinhibition of photosynthesis and its importance in reforestation. (en línea). *The Botanical Review*. 68(2):193-208. Consultado 15 abr. 2021. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/225248573_The_Phenomenon_of_Photoinhibition_of_Photosynthesis_and_Its_Importance_in_Reforestation
4. Araus, J. L.; Hogan, K. 1994. Leaf structure and patterns of photoinhibition in two neotropical palms in clearings and forest understory during the dry season. *American Journal of Botany*. 81(6):726-738.
5. _____.; Amaro, T.; Voltas, J.; Nakkoul, H.; Nachit, M. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crop Research*. 55:209-223.
6. Baker, N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*. no. 59:89-113.
7. Baenziger, M.; Edmeades, G. O.; Lafitte, H. R. 1999. Selection for drought tolerance increases maize yields across a range of nitrogen levels. (en línea). *Crop Science*. 39:1035-1040. Consultado jun. 2021. Disponible en [10.1007/s10681-007-9629-6](https://doi.org/10.1007/s10681-007-9629-6)
8. Benbella, M.; Paulsen, G. M. 1998. Efficacy of treatments for delaying senescence of wheat leaves: II. Senescence and grain yield under field conditions. (en línea). *Agronomy Journal*. 90:332-338. Consultado jun. 2021. Disponible en [10.1007/s10681-007-9629-6](https://doi.org/10.1007/s10681-007-9629-6)

9. Blankenship, R.; Zivcak, M. 2013. PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications. (en línea). *In*: Rout, G.; Das, A.; Bhubaneswar, J. eds. *Molecular Stress Physiology of Plants*. s.l., India, Springer. pp. 87-131. Consultado jun. 2021. Disponible en https://doi.org/10.1007/978-81-322-0807-5_4
10. _____. 2014. *Molecular mechanisms of photosynthesis: the basic principles of photosynthetic energy storage*. 2nd. ed. St. Louis, Missouri, Washington University. 314 p.
11. Borrell, A. K.; Hammer, G. L.; Henzell, R. G. 2000. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. (en línea). *Crop Science*. 40:1037-1048. Consultado jun. 2021. Disponible en [10.1007/s10681-007-9629-6](https://doi.org/10.1007/s10681-007-9629-6)
12. Brestic, M.; Zivcak, M.; Olsovska, K.; Repkova, J. 2008. Functional study of PS II and PS I energy use and dissipation mechanisms in barley wild type and chlorina mutants under high light conditions. (en línea). *In*: *International Congress on Photosynthesis (14th, 2007, Glasgow, UK). Energy from the Sun: proceedings*. Dordrecht, Springer. pp. 1407-1411. Consultado 25 abr. 2021. Disponible en https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6709-9_303
13. _____.; _____.; Kunderlikova, K.; Allakhverdiev, S. 2016. High temperature specifically affects the photoprotective responses of chlorophyll b-deficient wheat mutant lines. (en línea). *Photosynthesis Research*. 130(1-3):251-266. Consultado 30 abr. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0249-7>
14. Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. 2015. *Biochemistry and molecular biology of plants*. 3rd. ed. Oxford, UK, Wiley. 1264 p.
15. Córdoba, F. 2015. *Caracterización génica y funcional de cebada mutagenizada con respuesta mejorada al aumento del CO2 atmosférico*. (en línea). Memoria Dr. en Biología. Salamanca, España. Universidad de Salamanca. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca. Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias. 266 p. Consultado 16 abr. 2021. Disponible en https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/128134/DMG_C%F3rdobaJacosteFJ_Caracterizaci%F3ng%E9nicacebada.pdf;jsessionid=F102C041CDBAFB62FFBA1FB6F78A5F75?sequence=1

16. Courtois, B.; McLaren, G.; Sinha, P. K.; Prasad, K.; Yadav, R.; Shen, L. 2000. Mapping QTL associated with drought avoidance in upland rice. *Molecular Breeding*. 6:55-66.
17. Couto, P.; Bianchi, M.; Martin, D.; Ortiz, A.; Fontán, V.; Fossati, S.; Cardozo, M.; Neira, S.; Alfonso, F. 2021. Encuesta agrícola de primavera. Montevideo, MGAP. DIEA. 18 p. (Serie Encuestas no. 365).
18. Croce, R.; Müller, M.; Bassi, R.; Holzwarth, A. 2001. Carotenoid-to-chlorophyll energy transfer in recombinant major light-harvesting complex (LHCII) of higher plants. I. Femtosecond transient absorption measurements. *Biophysical*. 80:901-915.
19. Dau, H. 1994. Molecular mechanisms and quantitative models of variable photosystem II fluorescence. *Photochemistry and Photobiology*. 60:1-23.
20. De la Rivas, J. 2008. La luz y el aparato fotosintético. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. eds. *Fundamentos de fisiología vegetal*. 2^a. ed. Barcelona, Universidad de Barcelona. pp. 165-190.
21. Evans, J. 1986. A quantitative analysis of light distribution between the two photosystems, considering variation in both the relative amounts of the chlorophyll-protein complexes and the spectral quality of light. *Photobiochemistry*. 10:135-147.
22. Genty, B.; Briantais, J.; Baker, N. R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochemistry and Biophysical*. 990:87-92.
23. Giménez, F.; Conti, V.; Moreyra, F.; Tomaso, J. 2008. Efecto de la época de siembra sobre los caracteres económicos en genotipos de cebada cervecera. (en línea). s.l., INTA. Estación Experimental Agropecuaria Bordenave. 5 p. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://inta.gob.ar/documentos/efecto-de-la-epoca-de-siembra-sobre-los-caracteres-economicos-en-genotipos-de-cebada-cervecera>
24. Guo, P.; Li, M. 1996. Studies on photosynthetic characteristics in rice hybrid progenies and their parents I. chlorophyll content, chlorophyll-protein complex and chlorophyll fluorescence kinetics. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*. 4(4):60-65.
25. Hakala, M.; Tuominen, I.; Keranen, M.; Tyystjarvi, T.; Tyystjarvi, E. 2005. Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in

- photoinhibition of photosystem II. (en línea). *Biochemical and Biophysical Acta*. 1706(1-2):68-80. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.09.001>
26. Haussmann, B. I.; Mahalakshmi, V.; Reddy, B. V. S.; Seetharama, N.; Hash, C. T.; Geiger, H. H. 2002. QTL mapping of stay-green in two sorghum recombinant inbred populations. (en línea). *Theoretical and Applied Genetics*. 106:133–142. Consultado jun. 2021. Disponible en [10.1007/s10681-007-9629-6](https://doi.org/10.1007/s10681-007-9629-6)
 27. He, J.; Yang, W.; Qin, L.; Fan, D. Y.; Chow, W. S. 2015. Photoinactivation of photosystem II in wild-type and chlorophyll b-less barley leaves: which mechanism dominates depends on experimental circumstances. (en línea). *Photosynthesis Research*. 126(2-3):399-407. Consultado mar. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-015-0167-0>
 28. Hendrickson, L.; Förster, B.; Pogson, B. J.; Wah, S. C. 2005. A simple chlorophyll fluorescence parameter that correlates with the rate coefficient of photoinactivation of photosystem II. (en línea). *Photosynthesis Research*. 84(1-3):43-49. Consultado mar. 2021. Disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007/s11120-004-6430-4>
 29. Hoffman, E.; Arbeletche, P.; Fassana, N.; Locatelli, A.; Gutiérrez, G.; Viega, L.; Castro, A. 2015. Relevamiento del cultivo de cebada cervecera en Uruguay. *Cangüé*. no. 36:18-22.
 30. _____.; Fassana, C.; Akerman, A.; Bonansea, S.; Van del Dorpel, M. 2018. Caracterización de cultivares de cebada 2018. Evaluación año 2017. Paysandú, Facultad de Agronomía. EEMAC. 27 p.
 31. _____.; _____.; _____.; Van den Dorpel, M. 2020. Informe del Programa de caracterización de cultivares de cebada cervecera. Evaluación año 2019. Paysandú, Facultad de Agronomía. EEMAC. 28 p.
 32. Hogewoning, S.; Wientjes, E.; Douwstra, P.; Trouwborst, G.; Wim van, I.; Croce, R.; Harbinson, J. 2012. Photosynthetic quantum yield dynamics: from photosystems to leaves. *The Plant Cell*. 24(5):1921-1935.
 33. Hoover, W. H. 1937. The dependence of carbon dioxide assimilation in a higher plant on wavelength of radiation. *Smithsonian Institution Miscellaneous Collections*. 95:1-13.

34. Johkan, M.; Shoji, K.; Goto, F.; Hashida, S.; Yoshihara, T. 2010. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *Horticultural Science*. 45:1809-1814.
35. Kalaji, H.; Carpentier, R.; Suleyman, I.; Allakhverdiev, I.; Bosa, K. 2012. Fluorescence parameters as early indicators of light stress in barley. (en línea). *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 112:1-6. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2012.03.009>
36. _____.; Schansker, G.; Ladle, R.; Goltsev, V. 2014. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues. (en línea). *Photosynthesis Research*. 122(2):121-158. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0024-6>
37. _____.; _____.; Brestic, M.; Bussotti, F.; Calatayud, A.; Ferroni, L.; Bába, W. 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. (en línea). *Photosynthesis Research*. 132(1):13-66. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0318-y>
38. Karim, W.; Seidi, A.; Hill, R.; Chow, W.; Minagawa, J.; Hidaka, M.; Takahashi, S. 2015. Novel characteristics of photodamage to PSII in a high-light-sensitive symbiodiniumphylotype. (en línea). *Plant and Cell Physiology*. 56(6):1162-1171. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv040>
39. Kasajima, I.; Takahara, K.; Kawai, M.; Uchimiya, H. 2009. Estimation of the relative sizes of rate constants for chlorophyll de-excitation processes through comparison of inverse fluorescence intensities. *Plant and Cell Physiology*. 50(9):1600-1616.
40. Klimov, V.; Shafiev, M.; Allakhverdiev, S. I. 1990. Photoinactivation of the reactivation capacity of photosystem II in pea sub chloroplast particles after a complete removal of manganese. (en línea). *Photosynthesis Research*. 23(1):59-65. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/BF00030063>
41. Krause, G.; Weiss, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology*. 42(1):313-349.
42. Lazár, D. 2015. Parameters of photosynthetic energy partitioning. *Plant Physiology*. 175:131-147.

43. Lu, C.; Zhang, J. 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany*. 50(336):1199-1206.
44. Mc Cree, K. 1971. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants. *Agricultural Meteorology*. 9:191-216.
45. Maxwell, K.; Johnson, G. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51(345):659-668.
46. Medlyn, B. 1998. Physiological basis of the light use efficiency model. *Tree Physiology*. no.18:167-176.
47. Mehta, P.; Allakhverdiev, S.; Jajoo, A. 2010. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). (en línea). *Photosynthesis Research*. 105(3):249-255. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9588-y>
48. Murchie, E.; Hubbart, S.; Chen, Y.; Peng, S.; Horton, P. 2002. Acclimation of rice photosynthesis to irradiance under field conditions. *Plant Physiology*. 130:1999-2010.
49. 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. 43 p.
50. Ohnishi, N.; Allakhverdiev, S.; Takahashi, S.; Higashi, S.; Watanabe, M.; Nishiyama, Y.; Murata, N. 2005. Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. (en línea). *Biochemistry*. 44(23):8494-8499. Consultado jun. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1021/bi047518q>
51. 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. 40 p.
52. Quero, G.; Bonnacarrère, V.; Fernández, S.; Silva, P.; Simondi, S.; Borsani, O. 2019. Light-use efficiency and energy partitioning in rice is cultivar

- dependent. (en línea). *Photosynthesis Research*. 140(1):51-63. Consultado jul. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0605-x>
53. _____.; _____.; Simondi, S. 2021. Genetic architecture of photosynthesis energy partitioning as revealed by a genomewide association approach. (en línea). *Photosynthesis Research*. 150(1-3):97-115. Consultado may. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00721-2>
54. Rawson, H.; Constable, G.; Howe, G. 1980. Carbon production of sunflower cultivars in field and well-watered environments. II. leaf growth. *Australian Journal of Plant Physiology*. 7:575-586.
55. Ribaut, J.; Jiang, C.; Gonzalez-de-León D.; Edmeades, G.; Hoisington, D. 1997. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection. *Theoretical Applied Genetics*. 94:887-896.
56. Schreiber, U.; Hormann, H.; Asada, K.; Neubauer, C. 1995. O₂ dependent electron flow in intact spinach chloroplasts: properties and possible regulation of the Mehler-Ascobate-Peroxidase cycle. In: Mathis, P. ed. *Photosynthesis: from light to biosphere*. Dordrecht, Kluwer. v.2, pp. 813-818.
57. _____.; Klughammer, C. 2013. Wavelength-dependent photodamage to *Chlorella* investigated with a new type of multi-color PAM chlorophyll fluorometer. (en línea). *Photosynthesis Research*. 114(3):165-177. Consultado jun. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9801-x>
58. Semer, J.; Štrocha, M.; Špundaa, V.; Navrátila, M. 2018. Partitioning of absorbed light energy within photosystem II in barley can be affected by chloroplast movement. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*. 186:98-106.
59. Štroch, M.; Materová, Z.; Vrábl, D.; Karlický, V.; Šigut, L.; Nezval, J.; Špunda, V. 2015. Protective effect of UV-A radiation during acclimation of the photosynthetic apparatus to UV-B treatment. *Plant Physiology and Biochemistry*. 96:90-96.
60. Sztatelman, O.; Waloszek, A.; Banaś, A. K.; Gabryś, H. 2010. Photoprotective function of chloroplast avoidance movement: in vivo chlorophyll fluorescence study. *Journal of Plant Physiology*. 167:709-716.

61. Taiz, L.; Zeiger, E. 2006. Plant physiology. 4th. ed. Sunderland, Sinauer Associates. 316 p.
62. _____.; _____.; Moller, I.; Murphy, A. 2015. Plant Physiology and Development. 6th. ed. Sunderland, Sinauer. 761 p.
63. Takahashi, H.; Yamada, H.; Yoshida, C.; Imamura, T. 2012. Modification of light quality improves the growth and medicinal quality of clonal plantlets derived from the herbal plant *Gentiana*. *Plant Biotechnology*. 29:315-318.
64. Terashima, I.; Fujita, T.; Inoue, T.; Chow, W.; Oguchi, R. 2009. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant and Cell Physiology*. 50(4):684-697.
65. Vass, I.; Aro, E. 2008. Photoinhibition of photosystem II electron transport. In: Renger, G. eds. Primary processes of photosynthesis: basic principles and apparatus. Cambridge, Royal Society of Chemistry. pp. 393-411.
66. _____. 2011. Role of charge recombination processes in photodamage and photoprotection of the photosystem II complex. *Physiology Plantarum*. 142:1-11.
67. Verma, V.; Foulkes, M. J.; Worland, A. J.; Sylvester-Bradley, R.; Caligari, P. D. S.; Snape, J. W. 2004. Mapping quantitative trait loci for flag leaf senescence as a yield determinant in winter wheat under optimal and drought-stressed environments. (en línea). *Euphytica*. 135:255-263. Consultado abr. 2021. Disponible en [10.1007/s10681-007-9629-6](https://doi.org/10.1007/s10681-007-9629-6)
68. Von Bothmer, R.; Jacobsen, N.; Baden, C.; Jorgensen, R.; Linde-Laursen, I. 1995. An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. 2nd. ed. s.n.t. 129 p.
69. Yordanov, I.; Veleikova, V. 2000. Photoinhibition of photosystem I. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*. 26:70-92.
70. Zavafer, A.; Chow, W.; Cheah, M. H. 2015. The action spectrum of photosystem II photoinactivation in visible light. (en línea). *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 152:247-260. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.08.007>

71. _____. 2021. A theoretical framework of the hybrid mechanism of photosystem II photodamage. (en línea). *Photosynthesis Research*. 149(1-2):107-120. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11120-021-00843-1>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Componentes solución Hoagland

Componente	Solución
Macronutriente	
2M KNO ₃	202 g/L
1M Ca(NO ₃) ₂ •4H ₂ O	236 g/0.5L
Hierro (Sprint 138 quelato de hierro)	15 g/L
2M MgSO ₄ •7H ₂ O	493 g/L
1M NH ₄ NO ₃	80 g/L
Micronutrientes	
H ₃ BO ₃	2.86 g/L
MnCl ₂ •4H ₂ O	1.81 g/L
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.22 g/L
CuSO ₄ •5H ₂ O	0.051 g/L
H ₃ MoO ₄ •H ₂ O ó Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0.09 g/L 0.12 g/L
1M KH ₂ PO ₄ (pH 6.0)	136 g/L

Anexo 2. Tabla de análisis de varianza

Variable	Fuente de variación	SSn	SSd	DFn	F	p	p<.05
Φ_{PSII}	ambiente	0.172	0.538	3	25.186	3.58E-14	*
	luz actínica	11.55	0.538	2	2532.83	3.33E-160	*
	genotipo	0.02	0.538	6	1.435	0.202	
	ambiente:luz actínica	0.214	0.538	6	15.648	4.14E-15	*
	ambiente:genotipo	0.051	0.538	18	1.253	0.221	
	luz actínica:genotipo	0.019	0.538	12	0.706	0.745	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.057	0.538	36	0.691	0.908	
Φ_{qp}	ambiente	0.135	0.865	3	12.271	1.73E-07	*
	luz actínica	13.54	0.865	2	1845.96	7.8E-145	*
	genotipo	0.023	0.865	6	1.064	0.385	
	ambiente:luz actínica	0.29	0.865	6	13.194	7.1E-13	*
	ambiente:genotipo	0.089	0.865	18	1.343	0.162	
	luz actínica:genotipo	0.044	0.865	12	1.005	0.445	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.099	0.865	36	0.751	0.848	
Φ_{qs}	ambiente	0.173	0.265	3	51.382	1.35E-25	*
	luz actínica	0.621	0.265	2	276.778	1.3E-62	*
	genotipo	0.013	0.265	6	1.932	0.077	
	ambiente:luz actínica	0.067	0.265	6	9.922	9.18E-10	*
	ambiente:genotipo	0.026	0.265	18	1.28	0.202	
	luz actínica:genotipo	0.013	0.265	12	0.931	0.516	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.03	0.265	36	0.753	0.845	
Φ_{NPQ}	ambiente	0.207	0.543	3	29.93	1.96E-16	*
	luz actínica	14.4	0.543	2	3128.37	1.37E-170	*
	genotipo	0.018	0.543	6	1.27	0.272	
	ambiente:luz actínica	0.184	0.543	6	13.334	5.27E-13	*
	ambiente:genotipo	0.062	0.543	18	1.499	0.091	
	luz actínica:genotipo	0.019	0.543	12	0.675	0.775	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.067	0.543	36	0.808	0.776	
Φ_{NO}	ambiente	0.043	0.224	3	15.001	5.71E-09	*
	luz actínica	0.173	0.224	2	90.962	5.18E-30	*
	genotipo	0.005	0.224	6	0.877	0.512	
	ambiente:luz actínica	0.135	0.224	6	23.619	8.18E-22	*
	ambiente:genotipo	0.015	0.224	18	0.888	0.594	
	luz actínica:genotipo	0.005	0.224	12	0.441	0.945	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.03	0.224	36	0.883	0.664	
Φ_{NOpsII}	ambiente	0.032	0.144	3	17.227	3.78E-10	*
	luz actínica	0.106	0.144	2	86.515	6.56E-29	*
	genotipo	0.005	0.144	6	1.448	0.197	
	ambiente:luz actínica	0.026	0.144	6	7.13	5.36E-07	*
	ambiente:genotipo	0.01	0.144	18	0.893	0.588	
	luz actínica:genotipo	0.007	0.144	12	0.943	0.504	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.019	0.144	36	0.842	0.727	
$\Phi_{NObasal}$	ambiente	0.068	0.066	3	81.03	4.56E-36	*
	luz actínica	0.441	0.066	2	787.139	3.89E-105	*
	genotipo	0.004	0.066	6	2.664	0.016	*
	ambiente:luz actínica	0.137	0.066	6	81.559	9.42E-55	*
	ambiente:genotipo	0.006	0.066	18	1.163	0.293	
	luz actínica:genotipo	0.003	0.066	12	1.023	0.428	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.009	0.066	36	0.898	0.64	
$\Phi_{NPQfast}$	ambiente	0.138	0.41	3	26.406	9.18E-15	*
	luz actínica	12.31	0.41	2	3539.92	1.05E-176	*
	genotipo	0.01	0.41	6	1.006	0.422	
	ambiente:luz actínica	0.114	0.41	6	10.898	1.05E-10	*
	ambiente:genotipo	0.046	0.41	18	1.471	0.101	
	luz actínica:genotipo	0.016	0.41	12	0.77	0.681	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.049	0.41	36	0.783	0.808	
$\Phi_{NPQslow}$	ambiente	0.004	0.061	3	5.527	0.001	*
	luz actínica	0.037	0.061	2	72.306	3.21E-25	*
	genotipo	0.001	0.061	6	0.842	0.538	
	ambiente:luz actínica	0.018	0.061	6	11.758	1.58E-11	*
	ambiente:genotipo	0.004	0.061	18	0.86	0.628	
	luz actínica:genotipo	0.001	0.061	12	0.398	0.963	
	ambiente:luz actínica:genotipo	0.003	0.061	36	0.367	1	