

REGULACIÓN FOTOPERIÓDICA DE LA SENESCENCIA FOLIAR POST-FLORACIÓN EN SOJA Y EN OTRAS ESPECIES DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA



Tesis Doctoral

Tesista Lic. Santiago J. Kelly

Directores Dr. Juan J. Guiamet

Dr. Eduardo. A. Tambussi

Año 2023



**Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de la Plata**



El presente trabajo de tesis, para optar al grado de Doctor en Ciencias Naturales, fue realizado en el Instituto de Fisiología Vegetal de La Plata (INFIVE) perteneciente a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), bajo la dirección del Dr. Juan José Guiamet y del Dr. Eduardo Alberto Tambussi.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

A square image containing a handwritten signature in dark ink on a light-colored background. The signature is cursive and appears to read 'S. Kelly'.

Lic. Santiago Julián Kelly

*You can't always get what you want
You can't always get what you want
You can't always get what you want
But if you try sometime you'll find
You get what you need*

*No siempre puedes conseguir lo que quieres
No siempre puedes conseguir lo que quieres
No siempre puedes conseguir lo que quieres
Pero si lo intentas en algún momento encontrarás
Que obtienes lo que necesitas*

You Can't Always Get What You Want

The Rolling Stones (1969)

AGRADECIMIENTOS

Sin desconocer que el trabajo de una tesis doctoral es una tarea que tiene como autor una sola persona, en este caso la realización de la misma habría sido muy complicada (tal vez imposible) sin la ayuda de muchas personas, que tendrían que ser coautores de este estudio. Seguramente siendo injusto, por olvidar a algunos de ellos los pasé a nombrar (sin orden de importancia), tratando de reconocer su aporte.

Al Dr. Juan José Guiamet por confiar en que la línea de investigación iniciada por él en los años 80 en su Rosario natal, podía ser continuada casi 35 años después por mí ¡muchas gracias!

Al Dr. Eduardo Alberto Tambussi, por estar todo el tiempo; más allá de la formación científico/académico (importante), preguntado siempre *¿Cómo estás?, ¡descansa Kelly! tomate vacaciones con tu novia ¡no pierdas eso!, ¡la vida no termina en el laboratorio!* ¡Muchas gracias!

A la Dra. María Gabriela Cano “taty” por ser una fiel escudera todo el tiempo en esta tesis; sin importar si eran las 7 de la tarde, fin de semana, feriado, pandemia, “dudas existenciales” de tesista estuviste ¡Muchas gracias!

Al Dr. Diego Dario Fanello por acompañarme durante esta tesis con un asombroso optimismo que los ensayos iban a poder hacerse y saldrían bien ¡Muchas gracias!

A todas las personas que trabajaron en el INFIVE durante este período de tesis, de las cuales siempre algo aprendí; en especial del INFIVE quiero destacar al Sr. Mauro Bartolozzi “maurito” y a Santiago Martinez Alonzo, por ayudarme en la realización de los ensayos de la tesis. A la Lic. Julieta Petriella por estar comprometida con esta línea de investigación durante el transcurso de su pasantía. Al Ing. Agr. Pablo Etchevers por toda la ayuda prestada en la estación experimental. A la Sra. Nadia Romaniuk por la detallada edición de las fotos de esta tesis. A la Dr. Gonzalo Javier Marquez, Dra. Nora Gomez y Dra. Florencia Paolucci por estar predispuestos a ayudar, desde su lugar, cuando la finalización de la tesis se hizo “cuesta arriba” ¡Muchas gracias!

A mi familia nuclear, mamá, papá y “negra” porque sin entender qué estaba haciendo y porqué trabajaba tanto estuvieron, están y estarán siempre a pesar de la distancia física, los amo. Y a mi familia “no” nuclear, Abg. Rita Lucia por tampoco entender que estaba haciendo, pero siempre preguntando si precisaba algo. Por último, a la Lic. Julieta Victoria Traverso “Ju” por bancarme en estos años de tesis; me diste tu tiempo para acompañarme a tomar y pasar datos, procesar material, ser la primera oyente de ideas inconclusas y lectora de los párrafos que no cerraban, y revisar hasta lo último la citación correcta de las referencias; también me diste tu paciencia y aguantaste mis malos humores, mis frustraciones, mis derrotas, mis miedos, ¡te amo y muchas gracias!

PUBLICACIONES Y TRABAJOS PRESENTADOS EN CONGRESOS DERIVADOS DE LA TESIS

Publicaciones científicas

Kelly, S. J., Cano, M. G., Fanello, D. D., Tambussi, E. A., & Guiamet, J. J. (2021). Extended photoperiods after flowering increase the rate of dry matter production and nitrogen assimilation in mid maturing soybean cultivars. *Field Crops Research*, 265, 108104. doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108104

Trabajos presentados en congreso

Kelly, S.J., Roulliet, N., Fanello, D.D., Maydup, M.L., Cano, M.G., Tambussi, E.A. & Guiamet, J.J. (2017). Modificación del número y peso de grano, asimilación neta de CO₂ y contenido de clorofila en soja bajo fotoperiodo largo en post-floración. *III Workshop internacional de Ecofisiología de cultivos* (28-29 de septiembre del 2017), Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Kelly, S.J., Cano, M.G., Fanello, D.D., Traverso, J.V., Petriella, J., Tambussi, E.A., & Guiamet, J.J. (2018). Retardo de la senescencia y modificación de la asimilación neta de CO₂ bajo fotoperiodos no inductivos post-floración en especies de día largo y día corto. *XXXII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal (RAFV) y XVI Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal* (11 al 15 de septiembre del 2018), Ciudad de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Kelly, S.J., Tambussi, E.A., & Guiamet, J.J. (2021). Retardo de la senescencia y modificación en el número de ramificaciones y silicuas bajo fotoperiodos no inductivos en post-floración en *Arabidopsis thaliana*. *XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica* (6 - 8 de septiembre 2021), Oro Verde, Entre Ríos, Argentina (Virtual).

Kelly S.J., Plačková L., Cano M.G., Fanello D.D., Tambussi E.A. & Guiamet J.J. (2021). Changes in leaf hormone concentrations in soybeans growing under non-inductive photoperiods after flowering. *XXXIII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal* (13 al 17 de septiembre del 2021), Santa Fe, Argentina (Virtual)

ÍNDICE

Publicaciones y trabajos presentados en congresos derivados de la tesis.....	IV
Índice.....	V
Abreviaturas.....	X
Unidades.....	XIII
Resumen.....	XIV
Abstract	XVI
Capítulo 1. Introducción general, objetivos e hipótesis de trabajo.....	1
1.1. Fotoperíodo y fotoperiodismo.....	1
1.2. Fotoperíodo y floración.....	2
1.3. Percepción del fotoperíodo e inducción floral.....	4
1.4. Efectos del fotoperíodo en post-antesis (post- floración).....	6
1.5. Senescencia foliar.....	9
1.6. Modulación de la senescencia foliar dependiente e independiente del desarrollo reproductivo	11
1.7. Modulación de la senescencia foliar por hormonas vegetales.....	13
1.8. Modulación de la senescencia foliar por fotoperíodos no inductivos.....	18
1.9. Objetivos e hipótesis del trabajo de tesis.....	19
1.10. Estructura de la tesis.....	21
Capítulo 2. Retardo de la senescencia foliar, incremento de la biomasa y de la tasa de crecimiento, y aumento del contenido de nitrógeno en soja expuesta a días largos en post-antesis.....	22
2.1. Introducción.....	22
2.2. Materiales y métodos.....	25
2.2.1. Cultivo de plantas y tratamientos fotoperiódicos.....	25
2.2.2. Mediciones ambientales y fenología del cultivo.....	27
2.2.3. Determinación de la senescencia foliar.....	28
2.2.4. Muestreos destructivos y cálculos de biomasa.....	30
2.2.5. Mediciones y cálculo del contenido de nitrógeno.....	31
2.2.6. Análisis estadístico.....	32
2.3. Resultados.....	34
2.3.1. Condiciones ambientales y respuestas fenológicas.....	34
2.3.2. Degradación de clorofilas foliares, abscisión foliar y asimilación neta de dióxido de carbono en días largos en post-floración.....	36

2.3.3. Desarrollo y crecimiento de órganos vegetativos en días largos post- antesis.....	40
2.3.4. Desarrollo y crecimiento de vainas y granos en días largos post- antesis.....	43
2.3.5. Análisis de crecimiento en días largos post- antesis.....	47
2.3.6. Acumulación y fijación biológica de N ₂ en días largos post-antesis.....	51
2.4. Discusión.....	54
2.4.1. Demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos, y la senescencia foliar en día largo post-antesis.....	54
2.4.2. Aumento en la producción de biomasa e incremento en las tasas de acumulación de carbono en día largo post- antesis.....	56
2.4.3. Aumento en la asimilación de N en día largo post- floración.....	58
2.5. Conclusiones.....	59
Capítulo 3. Modulación de la degradación de clorofilas, mantenimiento de la asimilación neta de dióxido de carbono y aumento de biomasa en quínoa y amaranto (<i>Amaranthaceae</i>) bajo fotoperíodos largos en post-antesis.....	60
3.1. Introducción.....	60
3.2. Materiales y métodos.....	62
3.2.1. Condiciones de cultivo y material vegetal.....	62
3.2.2. Tratamientos fotoperiódicos.....	63
3.2.3. Determinaciones ambientales y fenológicas.....	64
3.2.4. Determinaciones de la senescencia foliar.....	65
3.2.5. Determinación y análisis de biomasa.....	68
3.2.6. Análisis estadístico.....	69
3.3. Resultados.....	70
3.3.1. Fenología y condiciones ambientales durante post-antesis.....	70
3.3.2. Senescencia foliar durante la etapa post-antesis.....	72
3.3.3. Modificación de la biomasa vegetativa durante post- antesis.....	82
3.3.4. Modificación de biomasa reproductiva durante la etapa post- antesis.....	85
3.3.5. Modificación de las tasas de crecimiento y partición de biomasa total durante post- antesis.....	88
3.4. Discusión.....	91
3.4.1. Retardo del desarrollo reproductivo de los granos en días largos durante post- antesis.....	91
3.4.2. Demora de la senescencia foliar en día largos en etapa post-antesis.....	92

3.4.3. Modificación en la producción de biomasa en días largos durante post-antesis.....	94
3.5. Conclusiones.....	97
Capítulo 4. Retardo funcional de la senescencia foliar y aumento de la biomasa en los cereales de invierno trigo, cebada, avena y centeno expuestos a día corto durante el período de post-antesis.....	98
4.1. Introducción.....	98
4.2. Materiales y métodos	101
4.2.1. Condiciones de cultivo y cultivares.....	101
4.2.2. Tratamientos fotoperiódicos.....	102
4.2.3. Determinaciones ambientales y fenológicas.....	103
4.2.4. Determinaciones de la senescencia foliar.....	104
4.2.5. Determinación y análisis de biomasa.....	105
4.2.6. Análisis estadístico.....	107
4.3. Resultados.....	107
4.3.1. Condiciones ambientales y desarrollo durante post-antesis.....	107
4.3.2. Modificación de la senescencia foliar durante post-antesis.....	109
4.3.3. Modificación de la biomasa vegetativa durante la post- antesis.....	119
4.3.4. Modificación de la biomasa reproductiva durante post- antesis.....	124
4.3.5. Modificación de las tasas de crecimiento y partición de la biomasa durante post-antesis.....	129
4.4. Discusión.....	133
4.4.1. Demora del desarrollo y de la senescencia foliar en fotoperíodo corto durante post-antesis.....	133
4.4.2. Aumento de la biomasa y cambio en la tasa de crecimiento en fotoperíodo corto durante post-antesis.....	136
4.5. Conclusiones.....	140
Capítulo 5. Aspectos mecanísticos de respuestas a fotoperíodo no inductivos post-antesis en soja: efectos indirectos <i>versus</i> directos y cambios hormonales.....	141
5.1. Introducción.....	141
5.2. Materiales y métodos.....	145
5.2.1. Experimento 1.....	145
5.2.1.1. Condiciones de cultivo y tratamientos fotoperiódicos y de desfrutado.....	145
5.2.1.2. Mediciones fenológicas, de la senescencia foliar y de la biomasa.....	146
5.2.2. Experimento 2.....	149

5.2.2.1. Condiciones de cultivo, tratamientos fotoperiódicos y determinaciones fisiológicas.....	149
5.2.2.2. Determinaciones de hormonas en hojas.....	150
5.2.3. Análisis estadístico.....	152
5.3. Resultados.....	153
5.3.1. Experimento 1.....	153
5.3.1.1. Fenología y condiciones ambientales durante post-antesis.....	153
5.3.1.2. Modificación del contenido de clorofilas foliares y asimilación de CO ₂ durante post- antesis.....	154
5.3.1.3. Modificación de la biomasa vegetativa y reproductiva durante post-antesis.....	160
5.3.2. Experimento 2.....	170
5.3.2.1. Análisis de la concentración foliar de hormonas en días largos en post- antesis.....	170
5.4. Discusión.....	174
5.4.1. Aumento en la duración de la etapa de post- antesis y de la biomasa: efectos del fotoperíodo independientes del desarrollo reproductivo de las vainas y granos (efectos directos).....	174
5.4.2. Demora de la senescencia foliar por efecto indirecto y directo del fotoperiodo en post- antesis.....	175
5.4.3. Modificación de la concentración foliar de hormonas asociada a la demora de la senescencia foliar en días largos post-antesis.....	177
5.5. Conclusiones.....	181
Capítulo 6. Conclusiones generales, contrastación de hipótesis y perspectivas futuras.....	182
6.1. Contrastaciones de hipótesis.....	182
6.2. Aportes de esta tesis al estado del conocimiento.....	189
6.2.1. Demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos en especies de “día corto” y “día largo” bajo fotoperíodos no inductivos en post-antesis.....	189
6.2.2. Demora de la senescencia foliar por efecto indirecto y directo de fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y de “día largo” bajo.....	190
6.2.3. Participación de las hormonas vegetales en la demora de la senescencia foliar en fotoperíodos no inductivos en post-antesis en soja.....	191

6.2.4. Incremento de la producción de biomasa por efecto indirecto y directo de fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y “día” largo bajo.....	193
6.3. Nuevos interrogantes y posibles líneas de investigación.....	194
6.3.1. Percepción de los fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y de “día largo”	195
6.3.2. Participación de CONSTANS (CO) y FLOWERING LOCUS T (FT) en la transición de los meristemas y desarrollo de la senescencia foliar en especies de “día corto” y “día” largo en fotoperíodos no inductivos en post-antesis.....	196
6.3.3. Síntesis, transporte y degradación de hormonas vegetales modificadas bajo fotoperíodos no inductivos en post-antesis en soja.....	197
6.3.4. Estudios de la variabilidad genética para las respuestas al fotoperíodo en post-antesis en soja e identificación de QTL (“Quantitative Trait Loci”) responsable.....	198
Referencias bibliográficas.....	200
Material suplementario.....	270

ABREVIATURAS

A: amaranto

ABA: ácido abscísico

Ac: estadio reproductivo de grano acuoso para quínoa y amaranto

Af: área foliar

AGR: tasa de crecimiento absoluto

An: asimilación de dióxido de carbono

At: estadio reproductivo de antesis en quínoa y amaranto

AUX: auxinas

BiTo: biomasa total

BNF: fijación biológica de N₂

C: carbón

CAN: coeficiente de asimilación neta

CCGs: genes asociados al catabolismo de las clorofilas

CGR: tasa de crecimiento del cultivo

CK: citocininas

CO: factor de transcripción CONTANS

CO₂: dióxido de carbono

Cry: criptocromo

cv./cvs.: cultivar/es

dt: día térmico

dpa: días post-antesis

dtpa: días térmicos por antesis

DHZ: dihidrozeatina

Du: estadio reproductivo de grano duro para quínoa y amaranto

esp: espiga (para trigo, cebada y centeno) o panícula (para avena)

espg: espiguilla

Ftr: factor de transcripción

FT: factor de transcripción FLOWERING LOCUS T

GA: giberelinas

gl: citocinina glucosilada

GM: grupo de madurez

Gn: grano

HI: índice de cosecha

Ho: hoja

hp: biomasa abscindida

IAA: ácido indol acético

JA: ácido jasmónico

LAI: índice de área foliar

LD: tratamiento fotoperiódico de día largo post-antesis

LDLD: tratamiento fotoperiódico de día largo pre-antesis y post-antesis

LD-va: tratamiento fotoperiódico de día largo post-antesis y desfrutado

Le: estadio reproductivo de grano lechoso para quínoa y amaranto

LED: diodos emisores de luz

li: citocinina sin sustituir, base libre

LWR: proporción del peso del área foliar

MC: madurez de cosecha

N: nitrógeno

NHI: índice de cosecha del nitrógeno

NS 4619: soja cultivar Nidera semilla 4619

NS 5019: soja cultivar Nidera semillas 5019

Pa: estadio reproductivo de grano pastoso para quínoa y amaranto

PAR: radiación fotosintéticamente activa

PARac: radiación fotosintéticamente activa acumulada durante un período de tiempo

Pc: fotoperíodo crítico

Pe: perigonio

Phy: fitocromo

pl: planta

PPFD: densidad de flujo fotónico fotosintético

Ps: sensibilidad fotoperiódica

pre trat: macollos pre-tratamiento

post trat: macollos post-tratamiento

Q: quínoa

R1-R7: estadios de desarrollo reproductivos en soja

Ra: ramificación

rb: ribótido de citocinina

Re: biomasa reproductiva

ReEs: resto de espigas o panículas

RGR: tasa de crecimiento relativo

rs: ribósido de citocinina

SA: ácido salicílico

SAGs: genes asociados a la senescencia

SD: tratamiento fotoperiódico de día corto post-antesis

SDSD: tratamiento fotoperiodos de día corto pre-antesis y post-antesis

SD-va: tratamiento fotoperiódico de día corto post-antesis y desfrutado

SLA: área foliar específica

SPAD: índice de “verdor”, determinación indirecta de las clorofilas foliares

Ta: tallo

Va: vaina

Ve: biomasa vegetativa

Z 50- Z 94: estadio de desarrollo reproductivo en trigo, cebada, avena y centeno.

UNIDADES

° C: grado centígrado

d: día

g: gramo

h: horas

ha: hectárea

J: joules

kg: kilogramo

Lat: latitud

M: mega

m: metros

μ: micro

mg: miligramo

min: minutos

mm: milímetro

m.s.m.: metros sobre el nivel del mar.

η: nano

N °: número

ppm: partes por millón

rpm: revoluciones por minuto

p: pico

s: segundo

RESUMEN

Los efectos del fotoperíodo en muchas especies de plantas han sido ampliamente estudiados principalmente en la inducción de la floración. En cambio, los efectos del fotoperíodo en etapas posteriores a la antesis en general, y en particular relacionado con la senescencia foliar han sido menos estudiados. A partir de ello es que el objetivo general de esta tesis fue determinar si los fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis en especies de “día corto” y “día largo” para floración participan en la regulación de la senescencia foliar y procesos asociados a la misma, y dilucidar posibles mecanismos subyacentes a esta respuesta. La idea de la realización de este estudio en diversas especies y con diferente tipo de requerimiento fotoperiódico fue analizar el grado de generalidad/universalidad de las respuestas observadas. Por otra parte, se tomó como caso paradigmático a la especie soja para profundizar algunos aspectos del mecanismo subyacente (v.g., cambios en los niveles hormonales foliares, experimentos de desfrutado para discriminar manipulativamente efectos del fotoperíodo de los del desarrollo reproductivo).

Para ello se trabajó con especies de “día corto” para la floración: “soja” (*Glycine max.* L. Merr.), “quínoa” (*Chenopodium quinoa* Willd.) y “amaranto” (*Amaranthus cruentus* L.), y con especies de “día largo”: “trigo panadero” (*Triticum aestivum* L.), “cebada” (*Hordeum vulgare* L.), “avena” (*Avena sativa* L.) y “centeno” (*Secale cereale* L.). Las plantas una vez alcanzada la antesis fueron expuestas a fotoperíodos no inductivos según el caso, i.e., tratamientos fotoperiódicos de día largo (LD) y día corto (SD) para especies de “día corto” y “día largo” respectivamente. Adicionalmente, en soja el tratamiento fotoperiódico se combinó con tratamientos de desfrutado, que consistieron en la remoción de las vainas a medida que se generaban. Durante la post-antesis en todas las especies se registró el desarrollo fenológico, la progresión de la senescencia foliar (a partir de degradación de clorofilas foliares, la asimilación de dióxido de carbono y la abscisión foliar), y las tasas de crecimiento y producción de biomasa durante este período. Por otra parte, en soja, también se registró el contenido y origen (edáfico o fijación biológica) del nitrógeno acumulado en la biomasa durante la post-antesis, y la concentración foliar de hormonas vegetales.

En todas las especies en estudio los principales resultados registrados fueron que en fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis se retardó el desarrollo reproductivo, lo que consecuentemente prolongó la duración del período post-antesis. Asociado a la mayor duración de la post-antesis se demoró la degradación de las clorofilas foliares junto a una mayor persistencia de la asimilación de dióxido de carbono. En las especies de “día corto” donde ocurre la abscisión foliar (en las especies de este estudio), se observó una retención de las hojas en fotoperíodos no inductivos. Todos los anteriores síntomas de la senescencia foliar determinaron que la misma estuvo demorada en fotoperíodos no inductivos, y además que la demora de la senescencia fue del tipo funcional (i.e., menor degradación de las

clorofilas asociada a un sostenimiento de la asimilación de dióxido de carbono). Si bien muchos síntomas de la senescencia se asociaron a la demora del desarrollo reproductivo, en la mayoría de las especies en estudio algunos de los síntomas no se asociaron exclusivamente a una mera demora del desarrollo reproductivo; consistentemente, en soja en tratamiento de desfrutado (*i.e.*, se disectó manipulativamente el efecto del desarrollo de vainas) también se registró que bajo LD se aplazó la senescencia de las hojas. En plantas de soja expuestas a LD, asociado a la demora funcional de la senescencia se incrementó la concentración de Zeatinas (Z), Isopentenil Adenina (IP) y Giberelina (GA_1), mientras que disminuyó la concentración de ácido abscísico (ABA), ácido jasmónico (JA) y ácido indol acético (IAA). Las modificaciones entre tratamientos en la concentración de IP y IAA se mantuvieron exclusivamente asociadas a la demora del desarrollo reproductivo (de vainas y semillas), mientras que el cambio de Z, GA_1 , ABA y JA persistieron cuando la comparación fue realizada considerando los mismos estadios de desarrollo. En general, en todas las especies se observó que junto a la mayor duración del período post-antesis (con una mayor radiación fotosintéticamente activa acumulada en esta etapa) y la demora funcional de la senescencia foliar en fotoperíodos no inductivos, se incrementó la producción de la biomasa total y de la biomasa vegetativa. Además, en todas las especies de “día corto” y en las de “día largo” trigo y avena aumentó el número de granos y el peso de granos por planta bajo fotoperíodos no inductivos. En soja en los tratamientos de desfrutado, la exposición a LD aumentó la generación de biomasa vegetativa. Por otra parte, los LD post-antesis en soja condujeron a un incremento de la acumulación de nitrógeno (sin cambios en la concentración en los tejidos) tanto por una mayor absorción de nitrógeno edáfico como de la fijación biológica de nitrógeno. Por último, en la mayoría de las especies se registró un cambio en las tasas de crecimiento diarias, por lo que el incremento de la biomasa total no se pudo asociar únicamente a un mayor período de crecimiento producto de la demora del desarrollo reproductivo bajo fotoperíodos no inductivos.

La conclusión general que surgió de esta tesis fue que el fotoperíodo produce una demora en la senescencia foliar y un incremento en la generación de biomasa mediante dos mecanismos subyacentes; en uno de esos mecanismos, el fotoperíodo actuó mediado por la demora del desarrollo reproductivo, *i.e.*, en este caso el fotoperíodo tendría un efecto indirecto sobre la senescencia foliar y producción de biomasa. Por otro lado, alguno de los efectos del fotoperíodo no estuvieron mediados por una mera demora en el desarrollo productivo, lo que sugiere un efecto directo del fotoperíodo sobre la senescencia foliar y producción de biomasa. Las hormonas vegetales estarían implicadas en ambos efectos del fotoperíodo sobre la senescencia foliar. Los fenómenos observados parecen estar conservados entre diferentes especies, pertenecientes a taxones (familias) diversas, y con requerimientos fotoperiódicos contrastantes para la floración.

ABSTRAC

The effects of photoperiod have been extensively studied in many plant species, mainly regarding the induction of flowering. Instead, the effects of photoperiod in stages after anthesis in general and in particular related to leaf senescence, have been less studied. Thus, the general objective of this thesis was to determine if non-inductive photoperiods after anthesis in "short day" and "long day" species for flowering participate in the regulation of leaf senescence and processes associated with it, and to elucidate possible mechanisms underlying this response. The idea to carry out this study in various species with different types of photoperiodic requirements was to analyse the degree of generality/universality of the responses previously observed in soybeans. On the other hand, soybean was chosen as a paradigmatic case to investigate some aspects of the underlying mechanisms (v.g., changes in leaf hormone levels, fruit removal experiments to manipulatively discriminate photoperiod effects mediated by changes in reproductive development from direct effects not linked to alterations in fruit growth).

In this thesis, I worked with "short day" species for flowering: "soybean" (*Glycine max.* L. Merr.), "quinoa" (*Chenopodium quinoa* Willd.) and "amaranth" (*Amaranthus cruentus* L.), and with "long day" species: "bread wheat" (*Triticum aestivum* L.), "barley" (*Hordeum vulgare* L.), "oats" (*Avena sativa* L.) and "rye" (*Secale cereale* L.). Once the plants reached anthesis, they were exposed to non-inductive photoperiods as appropriate, *i.e.*, long day (LD) and short day (SD) photoperiod treatments for "short day" and "long day" species respectively. Additionally, in soybean the photoperiod treatment was combined with fruit removal treatments, which consisted in the removal of the pods as they were generated. During post-anthesis in all species, the phenological development, the progression of leaf senescence (determined by leaf chlorophyll degradation, carbon dioxide assimilation and leaf abscission), and growth rates and production of biomass were recorded. On the other hand, in soybean, the content and origin (soil uptake and biological fixation) of nitrogen accumulated in the biomass during post-anthesis, and the foliar concentration of plant hormones were also recorded.

In all the species under study, the main results obtained were that in non-inductive photoperiods after anthesis, reproductive development was delayed, which consequently prolonged the duration of the post-anthesis period. Associated with the longer duration of post-anthesis, the degradation of leaf chlorophylls was delayed together with a greater persistence of carbon dioxide assimilation. In the "short day" species where leaf abscission occurs (in the species in this study), a retention of the leaves was observed in non-inductive photoperiods. All the previous symptoms of leaf senescence determined that it was delayed in non-inductive photoperiods, and also that the delay in senescence was of the functional type (*i.e.*, less degradation of chlorophylls associated with sustained carbon dioxide assimilation). Although

many symptoms of senescence were associated with delayed reproductive development, in most species studied some of the symptoms were not exclusively associated with delayed reproductive development; consistently, in soybean under fruit removal treatment (*i.e.*, the effect of pod development was manipulatively dissected) it was also recorded that under LD the senescence of the leaves was postponed, *i.e.*, a direct effect of photoperiod not related to the delay of reproductive growth was detected. In soybean plants exposed to LD, associated with the functional delay in senescence, the concentration of Zeatins (Z), Isopentenyl Adenine (IP) and Gibberellin (GA1) increased, while the concentration of abscisic acid (ABA) jasmonic acid (JA) and indole acetic acid (IAA) decreased. The modifications between treatments in the concentration of IP and IAA remained exclusively associated with the delay in the development of pods and seeds, while the changes in Z, GA1, ABA and JA persisted even when the comparisons were made at the same development stages. In general, in all species it was observed that together with the longer duration of the post-anthesis period (with a greater accumulated photosynthetically active radiation in this stage) and the functional delay of leaf senescence in non-inductive photoperiods, the production of total biomass and of vegetative biomass increased. Furthermore, in all “short day” and in the “long day” species wheat and oats seed/grain number and the weight of grains per plant under non-inductive photoperiods increased. In soybean in the fruit removal treatments, exposure to LD increased the generation of vegetative biomass. On the other hand, in soybean, post-anthesis LD led to an increase in nitrogen accumulation (without changes in tissue concentration) both due to greater soil nitrogen uptake and biological nitrogen fixation. Finally, in most of the species there was a change in daily growth rates, so the increase in total biomass could not be associated solely with a longer growth period due to the delay in reproductive development under non- Inductive photoperiods.

The general conclusion that emerged from this thesis is that non-inductive photoperiods produce a delay in leaf senescence and an increase in biomass production through two independent mechanisms; in one such mechanism, day length mediated the delay in reproductive development, *i.e.*, in this case photoperiod would have an indirect effect on senescence leaf and production of biomass. On the other hand, some of the effects of photoperiod were not mediated by a mere delay in productive development, suggesting a direct effect of photoperiod on leaf senescence and biomass production. Plant hormones would be involved in both photoperiod effects on leaf senescence. The observed phenomena seem to be conserved between different species belonging to diverse taxa (families), and with contrasting photoperiodic requirements for flower induction.

INTRODUCCIÓN GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO

1.1. FOTOPERÍODO Y FOTOPERIODISMO

Las plantas terrestres son organismos sésiles cuya supervivencia depende de la capacidad de censar el ambiente y de responder al cambio del mismo modificando su funcionamiento (Lichtenthaler 1998; Reddy *et al.* 2004; Gienapp *et al.* 2008; Tadeo & Gomez-Cadenas 2008; Yamori *et al.* 2014; Polle & Chen 2014; Lambers & Oliveira 2019). A lo largo del año las plantas que crecen en latitudes al sur y norte del ecuador (Lat. 0°) están expuestas a cambios estacionales del ambiente como la temperatura del aire (Miralles *et al.* 2001; Way & Montgomery 2015; Tovignan *et al.* 2016), la disponibilidad hídrica (Slafer *et al.* 2015; Tovignan *et al.* 2016), la radiación solar (King & Heide 2009; Ojeda *et al.* 2018) y el fotoperíodo (Jenkins 1973; Miralles *et al.* 2001; Taiz & Wigge 2015; Way & Montgomery 2015) (Fig. 1.1).

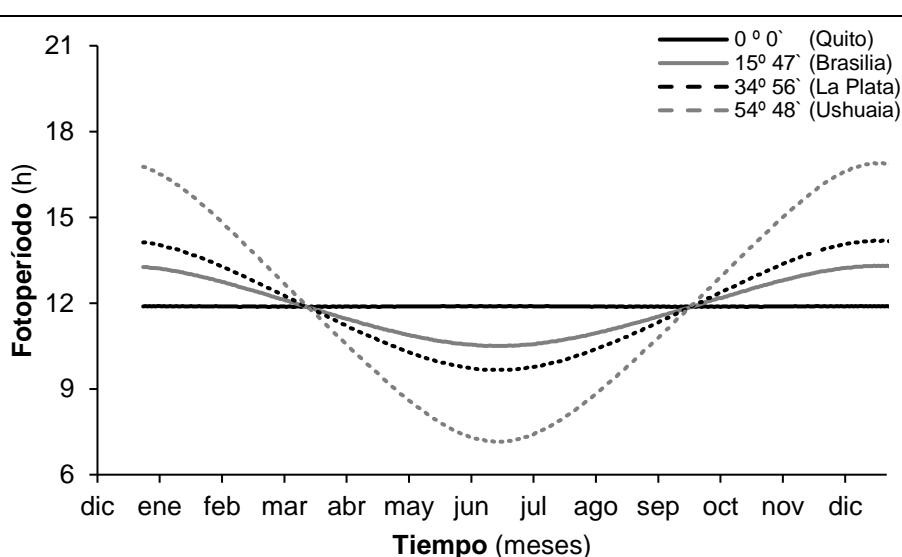


Figura 1.1. Modificación del fotoperíodo durante el año en diferentes latitudes en el hemisferio sur.

El fotoperíodo se define como la cantidad de horas de luz que tiene un día (Garner & Allard 1920; Thomas & Vince Prue 1997a ;Jackson 2009; Taiz & Wigge 2015), mientras que la capacidad por parte de las plantas de censar el mismo y responder modificando su funcionamiento (v.g., floración, generación de ramificaciones, fructificación) se denomina fotoperiodismo (Garner & Allard 1920,1923; Thomas & Vince Prue 1997a; Taiz & Wigge 2015). La primera descripción precisa de fotoperiodismo en plantas fue documentada por

Garner & Allard (1920), los cuales en condiciones controladas (invernáculos) pudieron separar el efecto del fotoperíodo de otro de los efectos de la luz como lo es la irradiancia (*i.e.*, cantidad de energía lumínica incidente en una unidad de área y tiempo; Ehleringer & Sandquist, 2015). En ese reporte registraron que en “soja” *Glycine max* (L.) Merr.¹ y “tabaco” *Nicotiana tabacum* L., indistintamente de la cantidad de irradiancia a la que estuvieron expuestas las plantas (lo que determinó su crecimiento vegetativo), la floración se alcanzaba más rápidamente en fotoperíodos cortos (Garner & Allard 1920). Corroborando el rol clave del fotoperíodo, en soja en condiciones experimentales de campo en fechas sucesivas de siembras durante la primavera y verano, determinaron que el día del año en que se alcanzaba la floración era similar (*i.e.*, similar fotoperíodo), a pesar de que el período vegetativo (*i.e.*, etapa previa a floración) y crecimiento vegetativo era menor a medida que se posponían las fechas de siembra (Garner & Allard 1920). A partir de este trabajo pionero sobre los efectos del fotoperíodo induciendo la floración, en muchas especies y en diversos efectos fisiológicos como la modificación de la tuberización en “papa” *Solanum tuberosum* L. (Garner & Allard 1923; Han *et al.* 2006), del desarrollo de granos² y vainas en soja (Thomas & Raper 1976; Guamet & Nakayama 1984a), del crecimiento de granos y frutos en “quínoa” *Chenopodium quinoa* Willd. (Bertero *et al.* 1999a; Bendevis *et al.* 2014a), del desarrollo reproductivo previo y posterior a antesis en “cebada” *Hordeum vulgare* L. (Guitard 1960; Miralles *et al.* 2000), “trigo panadero” *Triticum aestivum* L. (Thorne *et al.* 1968; Slafer & Rawson 1995,1996; Miralles *et al.* 2000; Gonzales *et al.* 2003a) y “avena” *Avena sativa* L. (Klinck & Sim 1977), la generación de yemas de dormición en árboles como “álamos” *Populus* L. (Böhlenius *et al.* 2006; Ingvarsson *et al.* 2006), se encontraron respuestas a la longitud del día.

1.2. FOTOPERÍODO Y FLORACIÓN

La inducción de la floración dependiendo de un determinado fotoperíodo permite clasificar a las plantas como de “día corto” o brevidiurnas, de “día largo” o longuidiurnas³ o bien neutras a la duración del día. Las plantas de “día corto” son aquellas en las que la inducción floral no sucede (“día corto” cualitativas) o se retrasa (“día corto” cuantitativas) si se supera un determinado fotoperíodo denominado crítico u óptimo (Fig. 1.2). Contrariamente, en las plantas de “día largo” la floración no sucede (“día largo” cualitativas)

¹ Los nombres científicos de las especies en esta tesis se actualizaron según la base Trópicos del Missouri Botanical Garden. En la primera mención de una especie se utiliza el nombre “común” seguido por el nombre científico; en sucesivas menciones a esa primera mención solo se utiliza en nombre común.

² Con el objetivo de mantener un lenguaje homogéneo y poder comparar entre las especies estudiadas en esta tesis, se nombran las semillas (en soja) y las semillas fusionadas con pericarpio de fruto (en quínoa, amaranto, trigo, cebada, avena y “centeno” *Secale cereale* L.) con el término “grano”.

³ Se adoptan en esta tesis de aquí en más los términos plantas de “día corto” y “día largo” en lugar de los términos clásicos (y en la actualidad menos usados) de plantas brevidiurnas y longuidiurnas.

o se demora (“día largo” cuantitativas) si no se supera un determinado fotoperíodo crítico (Fig. 1.2). En las plantas neutras al fotoperíodo, la inducción de la floración sucede independientemente de la longitud del día al que las plantas están expuestas (Garner & Allard 1920,1923; Schwabe 1959; Lang *et al.* 1977; Major & Kiniry 1991; Thomas & Vince Prue 1997b; Sadras *et al.* 2000; Jackson 2009; Taiz & Wigge 2015) (Fig.1.2).

En plantas de “día corto” y “día largo” existen genotipos con diferentes fotoperíodos críticos y sensibilidad a la longitud del día los que les ha permitido adaptarse a un amplio rango de latitudes (Fig. 1.2). La sensibilidad o respuesta al fotoperíodo inicialmente se conceptualizó como la duración de los días a floración (y de otras etapas del desarrollo) en los diferentes genotipos ante la exposición a fotoperíodos no inductivos (Criswell & Hume 1972; Polson 1972; Major *et al.* 1975; Nissly *et al.* 1981; Cregan & Hartwig 1984). En forma similar puede ser expresado este concepto como la relación entre el cambio en la duración de una determinada etapa fenológica y al cambio del fotoperíodo (*v.g.*, días hs^{-1}) (Major 1980; Slafer & Rawson 1995; Miralles *et al.* 2007; Wang *et al.* 2015; Nico *et al.* 2015; Yang *et al.* 2019). En la especie de “día corto” soja se usa frecuentemente el término grupo de madurez (GM) para asociar la sensibilidad y el fotoperíodo crítico a la adaptación de esta especie a una determinada latitud (Major *et al.* 1975; Zhang *et al.* 2007; Mourtzinis & Conley 2017; Yang *et al.* 2019). A partir de ello es que los genotipos se clasifican en GM bajos (000 - 0) de baja sensibilidad y altos fotoperíodos críticos, los GM medios (III-VI) de sensibilidades y fotoperíodo crítico intermedios, y los GM altos (VII-X) de mucha sensibilidad y fotoperíodo críticos bajos, adaptados a altas, media y bajas latitudes respectivamente (Major *et al.* 1975; Boote 1981; Piper *et al.* 1999a; Zhang *et al.* 2007; Mourtzinis & Conley 2017; Yang *et al.* 2019). La distinta sensibilidad al fotoperíodo está determinada por las variantes alélicas de la serie de los genes de madurez E (E1- E11) y J (Langewich *et al.* 2017; Li *et al.* 2017; Lin *et al.* 2020). Al igual que en soja en otra especie de “día corto” como quínoa, los genotipos con mayores respuestas al cambio de fotoperíodo están adaptados a latitudes más bajas en relación a los menos sensibles adaptados a latitudes más altas (Bertero *et al.* 1999b; Isobe *et al.* 2016, 2018). En esta especie la altitud también es un factor de adaptación importante, sin embargo, modificando exclusivamente el fotoperíodo los *cv.* “*del valle*” *sensu* Tapia (1979) (adaptados a los 2000 - 4000 m.s.m., 0 - 13 ° Lat. Sur) mantuvieron mayor sensibilidad al mismo que los *cv.* a “*nivel del mar*” (adaptados a 0 - 500 m.s.m., 36-39 ° Lat. Sur) (Bertero *et al.* 1999b; Isobe *et al.* 2016, 2018).

En plantas de “día largo” como son los cereales de invierno⁴ (*v.g.*, trigo, cebada), también la aparición de genes con variantes alélicas con poca sensibilidad o respuesta al cambio del fotoperíodo, permite el cultivo de estas especies en diferentes latitudes (Beales

⁴ Los cereales de invierno incluyen las especies trigo, cebada, centeno, avena y triticale (Ellen 1993a; Reeves *et al.* 2005)

et al. 2007; Yang *et al.* 2009; Fernandez-Calleja *et al.* 2021). En trigo, los cv. con genes de respuesta al fotoperíodo (Ppd) con las variantes alélicas poco sensibles al mismo (Ppd-A1a, Ppd-B1a, Ppd-D1a), posibilitan las siembras en latitudes bajas en los meses otoño-invierno, *i.e.*, en fotoperíodos cortos (SD), sin demorar la floración (Beales *et al.* 2007; Yang *et al.* 2009; Whittal *et al.* 2018); de esta forma se evita que el período del llenado de los granos que disminuye por incremento de las temperatura transcurra en el verano, lo que causaría una disminución en el rendimiento (Beales *et al.* 2007; Yang *et al.* 2009; Whittal *et al.* 2018). Por otro lado, en cebada, los genotipos con genes de respuesta al fotoperíodo que portan variantes alélicas poco sensibles a la longitud del día (ppdH1, ppdH2), permiten la siembra en primavera en latitudes altas, *i.e.*, fotoperíodos largos (LD), sin que suceda rápidamente la floración, prolongando de esta forma el crecimiento vegetativo y potencialmente aumentando el rendimiento (Turner *et al.* 2005; Jones *et al.* 2008; Casao *et al.* 2011; Fernandez-Callejas *et al.* 2021). A partir de todo lo anterior, parece claro que el fotoperíodo es un factor ambiental importante que modula el desarrollo en especies de “día corto” y “día largo”, y comprender esta relación tiene fuertes implicancias agronómicas.

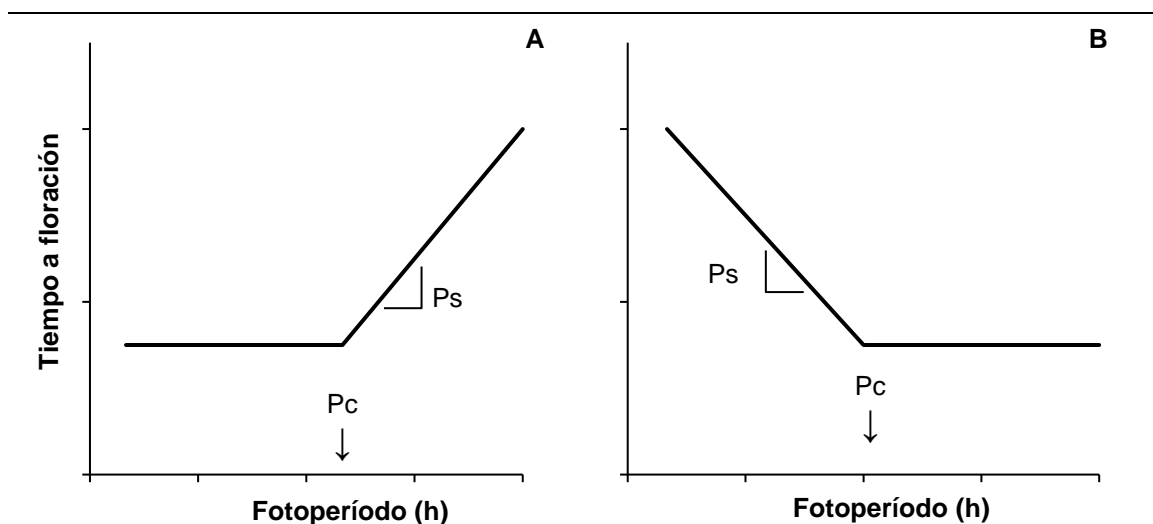


Figura 1.2. Relación entre el tiempo en que se alcanza la floración y el fotoperíodo en especies cuantitativas de “día corto” y “día largo” para la floración. (A) Especies de “día corto” y (B) especies de “día largo”. El fotoperíodo crítico (Pc) está indicado con flecha (↓) y la sensibilidad fotoperiódica (Ps) está indicado con ángulo recto (└┘). Figuras modificadas a partir de Mayor (1980).

1.3. PERCEPCIÓN DEL FOTOPERÍODO E INDUCCIÓN FLORAL

En las plantas superiores existen procesos fisiológicos que cambian con una periodicidad de aproximadamente 24 h (ciclo diario de luz-oscuridad), por lo que estas funciones siguen un ritmo del tipo circadiano (McClung 2006; Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015). Los ritmos de estos procesos fisiológicos son endógenos, esto significa que

ante la ausencia o constancia de un factor exógeno (v.g., luz u oscuridad continua) se mantienen al menos por un tiempo (Bünning 1960; McClung 2006). Esto indica la presencia de un oscilador endógeno, con cierta independencia del ambiente, que determina los ritmos de estas funciones (Alabadi *et al.* 2001; Mas & Yanovsky 2009; Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015; Creux & Hammer 2019; Webb *et al.* 2019; Venkat & Muneer 2022). La percepción del fotoperíodo es justamente una de las funciones que sigue un ritmo circadiano controlada por el oscilador interno, en el cual existen fases de menor o mayor sensibilidad a la luz que fluctúan durante un ciclo diario luz - oscuridad (Creux & Hammer 2019; Venkat & Muneer 2022). La hipótesis planteada en 1960 (Bünning 1960) conocida posteriormente como de “*coincidencia externa*”, plantea que existe una fase endógena de mayor sensibilidad a la luz que al coincidir con la exposición a la luz (*i.e.*, factor exógeno), induce la floración en plantas de “día largo” y reprime la floración en las plantas de “día corto” (Roldan & Zapater 2008; Song *et al.* 2015; Taiz & Wigge 2015). Posteriormente la descripción en *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. de un ritmo del tipo circadiano en la expresión del factor de transcripción CONSTANS (CO) generando fases menos y más sensibles a la luz, y su relación con la estimulación de FLOWERING LOCUS T (FT) necesario para la floración (Suarez-Lopez *et al.* 2000), permitió explicar el mecanismo de cómo la percepción de un determinado fotoperíodo en una fase sensible a la luz induce la floración (Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015).

En la especie de “día largo” *Arabidopsis thaliana*, la transcripción de CO (regulada por el oscilador interno) y la traducción de su proteína tiene niveles basales (fases menos sensibles a la luz) al comienzo del día y desde ese momento comienzan a aumentar llegando a sus máximos niveles (fases más sensibles a la luz) pasada aproximadamente 12 h del inicio de la fase menos sensible (Turk *et al.* 2008; Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015). Los máximos niveles de la proteína CO solo se alcanzan en presencia de luz, donde esta proteína se puede estabilizar en presencia del fitocromo A (Phy A) y criptocromo 2 (Cry 2), y no se degrada (Turck *et al.* 2008; Taiz & Wigge 2015). Esto determina que sean necesarios días lo suficientemente largos (LD) para que la estabilización de esta proteína ocurra y pueda aumentar la transcripción de FT induciendo la floración (Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015; Song *et al.* 2015). En la especie de “día corto” “arroz” (*Oryza sativa* L), se describió en relación al fotoperíodo una vía de floración homóloga y otra vía sin homólogas con *Arabidopsis thaliana* (Song *et al.* 2015; Zhou *et al.* 2020). En la vía homóloga, el factor HEADING DATE 1 (HD1) (homólogo de CO), actúa como un represor de la floración bajo días largo (LD) y como un factor inductor de la floración bajo días cortos (SD) (Yano *et al.* 2000), al reprimir o estimular respectivamente la expresión del factor HEADING DATE 3a (HD3a) (homólogo de FT) (Tamaki *et al.* 2007; Ishikawa *et al.* 2011). El factor HD1 tiene un ritmo circadiano con una fase más sensible a la luz (máximo nivel de

expresión) que sólo coincide con la presencia de luz en los LD (Zhuo *et al.* 2020). En esta fase más sensible y en presencia de luz, *i.e.*, en LD, el fitocromo B (Phy B) a través de una regulación postraducciona induce la actividad inhibidora de HD1 sobre HD3 (Ishikawa *et al.* 2011; Zhou *et al.* 2020). Mientras que en los SD la fase más sensible no coincide con la presencia de luz, por lo que Phy B no regula la actividad de HD1, y este puede inducir la expresión de HD3 (Ishikawa *et al.* 2011; Zhou *et al.* 2020). Por otra parte, en la vía no homóloga el factor de transcripción HD3a es estimulado por EARLY HEADING DATE 1 (ehd1) que se expresa en presencia de luz azul al inicio del amanecer (Itho *et al.* 2010; Zhao *et al.* 2012; Zhou *et al.* 2020). La floración ocurre en SD, producto de que la máxima expresión (transición noche-día) del factor HEADING DATE 7 (Gdh7) represor de ehd1, tiene que coincidir con la presencia de luz (a través de Phy A, Phy B), condición que ocurre únicamente en los LD (Itho *et al.* 2010; Song *et al.* 2015; Zhen *et al.* 2019; Zhou *et al.* 2020; Zhong *et al.* 2021).

La percepción de un determinado fotoperíodo y la transcripción de CO y FT en *Arabidopsis* (o sus homólogos en otras especies) ocurre en las hojas, y desde allí la proteína FT circula por el floema hasta los meristemas apicales caulinares induciendo la floración (Turck *et al.* 2008; Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015). El lugar de mayor síntesis de la proteína FT son las células acompañantes del floema en las hojas, donde se observa la mayor expresión de los ARNm y proteínas de CO y FT en fotoperíodos inductivos (Turck *et al.* 2008; Taiz & Wigge 2015; Chen *et al.* 2018). La proteína FT en el meristema apical se une en el núcleo celular con FLOWERING LOCUS D (FD), y este complejo activa los genes de identidad floral APETALA 1 (AP1), SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1) y LEAFY (LFY) iniciando la generación de los verticilos florales (Taiz & Wigge 2015; Yamaguchi 2021).

1.4. EFECTOS DEL FOTOPERÍODO EN POST- ANTESIS⁵ (POST-FLORACIÓN)

Los efectos del fotoperíodo además de describirse inicialmente en la promoción de la floración (pasaje del meristema caulinar de un estado vegetativo al reproductivo), también se han observado durante el estado de desarrollo posterior a la antesis (post- antesis). La mayor cantidad de estudios de estos efectos del fotoperíodo en post-antesis fueron realizados en soja, particularmente en los GM de sensibilidad intermedia (III-VII). Estos trabajos consistieron en la exposición de las plantas durante la post-antesis a fotoperíodos

⁵ En esta tesis se trabajó con los efectos del fotoperíodo posterior a antesis (*i.e.*, flores abiertas con anteras expuestas; Zadoks *et al.* 1974; Fehr & Cavinees 1977; Sosa-Zuniga *et al.* 2017; Martinez-Nuñez *et al.* 2019) que es una etapa de la post-floración. Por lo tanto, durante la tesis, al reportarse trabajos de otros autores se indica si los efectos del fotoperíodo registrados son posterior a floración o antesis.

no inductivos⁶, *i.e.*, LD ya que la soja es una especie de “día corto” tal como fue mencionado previamente. Los LD post- antesis en esta especie demoran el desarrollo reproductivo y consecuentemente alargan la duración de esta etapa (Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Asamadu *et al.* 1998; Kantolic & Slafer 2001, 2005; Han *et al.* 2006; Kantolic *et al.* 2007, 2013; Nico *et al.* 2015, 2016). La demora en el desarrollo reproductivo se debe por un lado a una transición más lenta de los meristemas (*i.e.*, de aquellos no diferenciados) desde un estado vegetativo a uno reproductivo (Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988) o incluso a una reversión de los meristemas desde un estado reproductivo a uno vegetativo (Washburn & Thomas 2000; Han *et al.* 2006), y por otro lado por el desarrollo más lento de vainas (*i.e.*, frutos) y granos (Guiamet & Nakayama 1984b; Morandi *et al.* 1988; Nico *et al.* 2016). En conjunto con la prolongación de la duración de la post- antesis bajo LD, se produce una mayor cantidad de biomasa total (incluye biomasa vegetativa y reproductiva) (Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Nico *et al.* 2015). Consecuentemente, la biomasa vegetativa (*i.e.*, peso de tallos, pecíolos y hojas) (Thomas & Raper *et al.* 1976; Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988, Morandi *et al.* 1988) y también el número de nudos (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016) y ramificaciones se incrementa (Guiamet & Nakayama 1984b). En los LD un mayor número de nudos que portan vainas (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016) junto al incremento del número de vainas por nudo (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016), genera un aumento en la cantidad de vainas (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016) y granos en las plantas (Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015). El mayor número de granos más que el peso individual de los granos en la mayoría de los reportes, explican el aumento de rendimiento en soja expuesta bajo LD en post-antesis (Guiamet & Nakayama 1984b; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015). Parte de los cambios enumerados anteriormente en fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis están mediados por el cambio (demora) en el desarrollo reproductivo de las vainas y granos (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001,2005; Nico *et al.* 2015), lo que

⁶ Los términos “inductivo” o “no inductivo” para especies con respuesta cuantitativa y su utilización posterior a la inducción de la floración (post-antesis) pueden ser cuestionados; por ello se podrían proponer términos tales como “poco inductivo” de la floración u “subóptimo” en relación al fotoperíodo crítico; sin embargo, por cuestiones de simplicidad y para ser consistente con la terminología clásica en el tema, se usarán los términos “inductivo/no inductivo”, siendo conscientes de la limitación de esos conceptos.

es interpretado como un efecto indirecto del fotoperíodo⁷. Sin embargo, parte del incremento de la longitud de ramificaciones y área foliar (Caffaro & Nakayama 1988) y de la disminución de la partición de asimilados hacia granos durante su llenado (Morandi *et al.* 1988), no están asociados (mediados) a un cambio en el desarrollo reproductivo de las vainas y granos, lo que indica también un efecto directo del fotoperíodo en post-antesis. Finalmente, también en cvs. de soja perteneciente a GM bajos (0, 00,000) de poca sensibilidad al fotoperíodo para la floración, los LD post-antesis tienen similares efectos (aunque menos marcados) que en los GM de sensibilidad intermedia (Guiamet & Nakayama 1984b; Han *et al.* 2006). Mientras que en los GM altos (VIII – X), muy sensibles al fotoperíodo para floración, los fotoperíodos no inductivos posterior a antesis, producen en general una abscisión de flores/vainas y un resurgimiento del crecimiento vegetativo (Guiamet & Nakayama 1984b; Han *et al.* 2006).

El estudio de los efectos del fotoperíodo no inductivos en post-antesis en otras especies de “día corto” (diferentes de soja) ha recibido menor atención; sin embargo, se describieron algunos efectos similares a los reportados en soja. En quínoa, por ejemplo, los LD desde el inicio de la floración posponen la antesis de las flores y consecuentemente se prolonga este período (Bertero *et al.* 1999a), y además enlentecen el desarrollo reproductivo de granos posterior a antesis (Bendevis *et al.* 2014a). Junto a la demora de desarrollo reproductivo de granos en LD desde la floración (previos a antesis) se incrementa la producción de la biomasa total tanto en cvs. sensibles al fotoperíodo para la floración, como en cvs. neutros para la misma (Bendevis *et al.* 2014b). También bajo LD aumenta la biomasa vegetativa y el número de las ramificaciones (Bendevis *et al.* 2014a). La exposición bajo LD desde antesis también tuvo efecto al incrementar la altura de las plantas (Christiansen *et al.* 2010). Por otro lado, los LD en general tienen un efecto contrario sobre la producción de la biomasa reproductiva en relación a la vegetativa. Los LD impuestos en post-floración disminuyen tanto el tamaño (Bertero *et al.* 1999a; Isobe *et al.* 2018) como el número de los granos (Bendevis *et al.* 2014b; Isobe *et al.* 2018), y consecuentemente reducen el rendimiento de granos por planta (Bendevis *et al.* 2014 a,b; Isobe *et al.* 2018). La única excepción a estas respuestas de la biomasa reproductiva se registró en un cv. insensible al fotoperíodo para la floración, donde en LD desde floración aumentaron la biomasa reproductiva (*i.e.*, conjunto del peso de granos y perigonios) (Bendevis *et al.* 2014a) y el rendimiento de los granos por planta (Bendevis *et al.* 2014b). Por último, en “amaranto” *Amaranthus retroflexus* L., otra especie de “día corto” para la floración y de la misma familia que quínoa (*Amaranthaceae* Juss.), la exposición bajo LD en post-floración aumentan el número y la longitud de las ramificaciones (Koller *et al.* 1979b).

⁷ En forma diferente a como se define en esta tesis el efecto indirecto y directo del fotoperíodo, otros autores (*v.g.*, Nico *et al.* 2015,2016,2019) caracterizaron como efecto directo del fotoperíodo a aquel que produce cambios en el desarrollo (*v.g.*, prolongación de una etapa reproductiva); en contraposición el efecto indirecto del fotoperíodo (*v.g.*, incremento de la biomasa) es el derivado del efecto directo.

En plantas de “día largo” para la floración como son los cereales de invierno, los fotoperíodos no inductivos de la floración (*i.e.*, SD) posteriores a antesis han sido estudiados con resultados dispares. Por un lado, en condiciones experimentales de campo las especies trigo (Marcellos & Single 1972; Angus *et al.* 1981; Porter *et al.* 1987), cebada (Alzueta *et al.* 2014), avena (Colville & Frey 1986) y centeno (Chmielewsky & Kohn 2000) expuestas a días más cortos y fríos (otoño - invierno) durante la post-antesis prolongan la duración de la misma en relación a la exposición a días más largos y cálidos (primavera - verano); en estos trabajos la mayor duración de la post-antesis se relacionó a la menor temperatura y no a un efecto de los SD (Marcellos & Single 1972; Angus *et al.* 1981; Porter *et al.* 1987; Chmielewsky & Kohn 2000; Alzueta *et al.* 2014). Por otro lado, en condiciones experimentales semicontroladas, donde exclusivamente se estudió el efecto de los SD (*i.e.*, la temperatura se mantuvo controlada), en algunos cvs. de trigo se prolongó la duración de la post-antesis (Thorne *et al.* 1968), mientras que en otros cvs. la misma no estuvo afectada (Han *et al.* 2006). En esta especie los SD post-antesis también disminuyeron la producción de biomasa vegetativa, el número y peso de los granos (Thorne *et al.* 1968). En cebada bajo SD post-antesis se prolongó la duración de este período junto con una disminución en el desarrollo de biomasa vegetativa y de espigas en macollos (Guitard 1960). Finalmente, en algunos cvs. de avena (Klinck & Sim 1977) y “triticale” *xTriticosecale* Wittm. ex A. Camus (Han *et al.* 2005), la exposición bajo SD en post-antesis prolongó esta etapa, asociado a un aumento en el número de macollos y de granos por planta.

Dado que los fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y “día largo” pueden impactar en la fenología y producción de biomasa en general y en la senescencia en particular (y concomitantemente, en la duración de área foliar), en la sección siguiente se introducirán aspectos y conceptos de este tema.

1.5. SENESCENCIA FOLIAR

La senescencia es el proceso de degeneración endógeno durante el último estadio de desarrollo que lleva a una célula (*i.e.*, muerte celular programada), un órgano (*i.e.*, senescencia foliar, floral, de un fruto) o a un individuo (*i.e.*, la planta en su totalidad) a la muerte (Nooden 2004; Avila-Ospina *et al.* 2014; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019). La senescencia en condiciones naturales (*i.e.*, no inducida) no debería entenderse a partir de una única causa, sino como la integración de señales endógenas (*v.g.*, hormonas vegetales, azúcares) y exógenas (*v.g.*, nutrientes, temperatura, irradiancia y calidad espectral de la luz, fotoperíodo) que promueven la misma (Thomas & Stoddart 1980; Nooden 2004; Lin *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021; Lee *et al.* 2021). Los estudios de la senescencia en las plantas indistintamente del nivel al

que se investigue (*i.e.*, molecular, celular, órgano, organismo), se realizan mediante la caracterización de alguno de sus síntomas (Leopold *et al.* 1959; Lindoo & Nooden 1976, 1977; Thomas & Stoddart 1980; Nooden 2004; Guiboileau *et al.* 2010; Davies & Gan 2012; Avila-Ospina *et al.* 2014; Krieger-Liszky *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). En particular los síntomas de la senescencia de las hojas se puede caracterizar por su cambio de color (*i.e.*, degradación de clorofila) (Feller *et al.* 1977; Nooden & Guamet 1989; Guamet *et al.* 1991; Guamet & Giannibelli 1996; Koike *et al.* 2004, Ougham *et al.* 2005; Reis-Pimenta *et al.* 2016; Lee *et al.* 2021), por la pérdida de la actividad fotosintética (*i.e.*, degradación de proteínas de los tilacoides y del estroma del cloroplasto) (Mondal *et al.* 1977; Nooden & Guamet 1989; Guamet *et al.* 1990; Thomas & Smart 1993; Reis-Pimenta *et al.* 2016) y por la abscisión foliar (Leopold *et al.* 1959; Guamet *et al.* 1990; Munne-Bosch & Alegre 2004; Gulfishan *et al.* 2019).

En las hojas macroscópicamente la degradación de las clorofilas se evidencia por la pérdida del color verde (Feller *et al.* 1977; Guamet *et al.* 1991,1996; Koike *et al.* 2004, Ougham *et al.* 2005; Reis-Pimenta *et al.* 2016) y la aparición de colores amarillo y anaranjado (carotenoides) o rojo (antocianinas) (Koike *et al.* 2004, Ougham *et al.* 2005). A nivel subcelular el desmantelamiento de los cloroplastos y específicamente el catabolismo de las clorofilas, explica el cambio de color que se evidencia macroscópicamente (Ougham *et al.* 2005; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). Las clorofilas insertas en las membranas tilacoidales forman junto con las proteínas transmembranas los fotosistemas I y II (Blankenship 2015; Komenda & Sobotka 2017; Albanese *et al.* 2020), se degradan por la vía feoforbida “a” oxigenasa (PAO) cuyas enzimas catalíticas están regulados por los “genes asociados al catabolismo de las clorofilas” (CCG) (Krupisnka & Humbech 2004; Ougham *et al.* 2005; Taiz 2015; Woo *et al.* 2019; Dominguez & Cejudo 2021). La pérdida del color verde se produce en el momento que PAO cataliza la apertura oxigenolítica del anillo tetrapirrólico de la feoforbida “a” generando el catabolito rojo de la clorofila (Ougham *et al.* 2005; Dominguez & Cejudo 2021), que posteriormente se reduce y es exportado fuera del cloroplasto hacia la vacuola central (Krupisnka & Humbech 2004; Ougham *et al.* 2005; Taiz 2015; Woo *et al.* 2019; Dominguez & Cejudo 2021). Por otro lado, los carotenoides que también forman parte de los fotosistemas, se degradan posteriormente a las Chs, de allí que su color surge en la etapa final de la senescencia foliar (Ougham *et al.* 2005; Rottet *et al.* 2015, 2016).

La pérdida de la actividad fotosintética en las hojas durante el proceso de senescencia se evidencia inicialmente tanto por la disminución del transporte electrónico en las membranas tilacoidales (Hilditch *et al.* 1986; Glover & Moharty 1993; Morita *et al.* 2009; Weng *et al.* 2005; Wang *et al.* 2015; Krieger-Liszlay *et al.* 2019) como por el descenso de la asimilación de dióxido de carbono (An) (Mondal *et al.* 1977; Nooden & Guamet 1989;

Guiamet *et al.* 1990; Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; He *et al.* 2002; Weng *et al.* 2005; Reis-Pimenta *et al.* 2016). El mecanismo subyacente a estos procesos es la proteólisis tanto de proteínas asociadas a tilacoides como proteínas del estroma cloroplástico (Feller *et al.* 1977; Guiamet *et al.* 1991, 1996; Otegui *et al.* 2005; Ishida *et al.* 2008; Wang & Blumwald 2014; van Wijk 2015; Nishimura *et al.* 2016, 2017; Frank *et al.* 2019). La degradación de estas proteínas durante la senescencia foliar tiene lugar tanto dentro del cloroplasto (*i.e.*, proteólisis intraplástidial) (van Wijk 2015; Nishimura *et al.* 2016, 2017; Frank *et al.* 2019), como fuera del cloroplasto (*i.e.*, proteólisis extraplástidial) a partir de vesículas (*v.g.*, autofagosomas, vacuolas asociadas a senescencia) que transitan desde esta organela hasta la vacuola central (Otegui *et al.* 2005; Ishida *et al.* 2008; Michaelis *et al.* 2014; Wang & Blumward 2014; Otegui 2018; Buet *et al.* 2019; Zhuang & Jiang 2019; Guo *et al.* 2021; Dominguez & Cejudo 2021). Dado que *ca.* 70 % del nitrógeno (N) de las hojas se encuentra formando proteínas cloroplásticas (Peoples & Dalling 1988; Mae 2004; Buet *et al.* 2019), es fundamental la proteólisis durante la senescencia liberando N (en forma de aminoácidos como asparagina y glutamina), que es removilizado por el floema hacia los frutos en crecimiento u órganos de reserva (Peeters & van Laere 1994; Mae 2004; Have *et al.* 2006; Davies & Gan 2012; Lee & Masclaux-Daubresse 2021).

1.6. MODULACIÓN DE LA SENESCENCIA FOLIAR DEPENDIENTE E INDEPENDIENTE DEL DESARROLLO REPRODUCTIVO

En plantas monocárpicas (*i.e.*, plantas con un solo ciclo reproductivo; Nooden 2004) la senescencia foliar está asociada al desarrollo de los frutos y granos (Jhonson 1862; Molish 1938 citado en Leopold *et al.* 1959; Sax 1962; Nooden *et al.* 1978, 2004; Kelly *et al.* 1988; Nooden & Guiamet 1989; Fangmeier *et al.* 2000; Davies & Gan 2011; Taiz 2015; Gan 2018). En base a esta correlación, se ha caracterizado a la senescencia foliar como una distribución preferencial de nutrientes (sobre todo nitrógeno) y fotoasimilados (carbohidratos) hacia los frutos y granos en crecimiento, y/o removilización de estos elementos desde las hojas hacia los frutos y granos, produciendo la degradación de las mismas (Fig. 1.3) (Sinclair & de Wit 1975, 1976; Mae & Ohira 1981; Waremboung *et al.* 1982; Wilson 1997; Kelly *et al.* 1988; Fangmeier *et al.* 2000; Horstetiener & Feller 2002; Nooden *et al.* 2004, Davies & Gan 2011; He *et al.* 2012; Taiz 2015).

La distribución y removilización de nitrógeno (N) desde los tejidos vegetativos hacia los frutos y granos en desarrollo produciendo la senescencia de las hojas (y de toda la planta) se explica en parte por el mecanismo de “*self-destruction*” (Sinclair & de Wit 1975). En términos generales este mecanismo plantea que la demanda de N por los frutos y granos en crecimiento es mayor que la tasa de absorción de N por el sistema radical, por lo que ese

déficit se suple con N proveniente de los tejidos vegetativos, desencadenando la senescencia (Sinclair & de Wit 1975, 1976). Durante la senescencia foliar la correlación entre la disminución de N en las hojas y el incremento de este elemento en los frutos y granos en especies como soja (Sinclair & de Wit 1976; Egli *et al.* 1978; Warembourg *et al.* 1982; Martignone *et al.* 1987), trigo (Aranjuelo *et al.* 2012; Nehe *et al.* 2020), cebada (Ellen 1993 b; Fangmeier *et al.* 2000), arroz (Tabuchi *et al.* 2007; Wu *et al.* 2018), maíz (Feller *et al.* 1977; Cliquet *et al.* 1990), “sorgo” *Sorghum bicolor* (L.) Moench (van Oosterom *et al.* 2010), “colza” *Brassica napus* L. (Rosatto & Uorrry 2001) y *Arabidopsis thaliana* (Taylor *et al.* 2010; Have *et al.* 2017), corroboraron la participación de este mecanismo (Fig. 1.3).

Por otro lado, la correlación entre la disminución de fotoasimilados en las hojas y el aumento de los mismos en frutos y granos en crecimiento (Nooden *et al.* 2004; Wilson 2006; Guiboileau *et al.* 2010; Distelfeld *et al.* 2014; Dunford 2015), permite explicar la senescencia de las hojas por el mecanismo de “fuente – destino” (Herold 1980; Nooden *et al.* 2004; Dunford 2015). La participación de este mecanismo en la senescencia se ha contrastado a partir de modificar la relación fuente - destino y seguir la evolución de la senescencia (*v.g.*, el incremento de esta relación producto de la disminución de los destinos demora la senescencia de las hojas). En soja, especie en donde este proceso fue exhaustivamente estudiado, diversos tratamientos manipulativos de disminución de los destinos por remoción de flores y vainas (Leopold *et al.* 1959; Lindoo & Nodden 1976; Nooden *et al.* 1978,1990a; Mondal *et al.* 1978; Crafts-Brandner & Egli 1987b; Han *et al.* 2006), remoción de los granos en las vainas en crecimiento (Lindoo & Nooden 1977), o restricción mecánica del crecimiento de las vainas (Crafts-Brandner & Egli 1987a; Miceli *et al.* 1995) se asocian a la demora de la senescencia foliar. Por otro lado, en trigo también la disminución de los destinos por la remoción de la espiga completa (Feller 1979; Biswas & Mandal 1986), de los granos o espiguillas (Biswas & Mandal 1988; Srivalli & Khanna-Chopra 2009) y en cvs. donde no se generan granos (*i.e.*, líneas estériles) (Khanna-Chopra & Sinha 1988; Semwal & Khanna-Chopra 2018) demoran la senescencia de las hojas. En otras especies como cebada (Nosberger & Thorne 1965), arroz (Biswas & Choudhruri 1980), maíz (Moss 1962; Borrás *et al.* 2003), sorgo (Khanna-Chopra & Sinha 1988) y “girasol” *Helianthus annuus* L. (Ho *et al.* 1987) la disminución de los destinos retarda la senescencia de las hojas, evidenciando la participación del mecanismo de “fuente-destino” en este proceso degradativo (Fig. 1.3).

A partir de lo descrito previamente, parece claro que el desarrollo reproductivo participa correlativamente modulando la senescencia foliar; sin embargo, en alguno de los mismos trabajos previamente citados (y en otros), existen modificaciones en la senescencia foliar que no pueden ser explicados únicamente a partir de la correlación con el desarrollo reproductivo de frutos y granos. En soja el aumento en la disponibilidad de N durante el

desarrollo de las vainas, que supliría el déficit de este elemento durante el crecimiento de las mismas, no demoró el ritmo de senescencia de las hojas (Egli *et al.* 1978; Gutierrez-Boem *et al.* 2004). En medios de cultivo hidropónicos ricos en N, la redistribución de este elemento hacia las vainas comenzó previamente a la degradación de las clorofilas y proteínas solubles foliares (Martignone *et al.* 1987), y frente al aumento de la fuerza de los destinos no se aceleró la degradación de las clorofilas (Hayati *et al.* 1995). Ante la ausencia de las vainas (*i.e.*, remoción) el inicio del avance de la degradación de las clorofilas y de la disminución de la An fue al mismo tiempo que en plantas con vainas intactas (Crafts-Brandner & Egli 1987 b). En algunos cvs. la remoción de las vainas generó la degradación más lenta de las clorofilas, sin embargo, la An disminuyó al mismo ritmo que en plantas con vainas (Mondal *et al.* 1978; Wittenbach 1982, 1983; Crafts-Brandner & Egli 1987b). La interrupción del floema entre las hojas y las vainas, aumentó el contenido de N (Nooden & Murray 1982) y almidón (*i.e.*, forma de reserva de fotoasimilados) (Wood *et al.* 1986) en las láminas foliares de soja sin demorar el ritmo de degradación de las clorofilas. Por otro lado, en trigo la remoción parcial o total de la espiga en macollos principales no modificó la duración de área verde (Slafer & Miralles 1992; Slafer & Savin 1994). La remoción de toda o la mitad de la espiga no modificó el inicio de la degradación y la degradación máxima de clorofilas, en relación a plantas con espigas intactas (Mackown *et al.* 1992). También en esta especie existió una correlación negativa entre la removilización de N a grano y la duración de la senescencia en hoja bandera en dosis altas de este elemento, sin embargo, esta correlación no existió en dosis bajas de N (Gayu *et al.* 2014). En algunos cvs. de maíz la disminución de los destinos (*v.g.*, tratamientos de remoción de granos, evitar la fertilización) o la remoción de la espiga completa no tuvo efecto sobre la senescencia (Borras *et al.* 2003) o incluso la aceleró (Christensen *et al.* 1981; Crafts-Brandner *et al.* 1984a, b; Rajcan *et al.* 1999). Por último, la incapacidad de formar frutos (*i.e.*, esterilidad) también se utilizó para demostrar la correlación entre el desarrollo del fruto y granos (en este caso no se forman) y la senescencia. En algunos cv. estériles de especies como “espinaca” *Spinacea oleracea* L. (Leopold 1959) y *Arabidopsis thaliana* (Hensel *et al.* 1993; Nooden & Penney 2001; Guiboileau *et al.* 2010) la ausencia de frutos y granos no cambió el ritmo de senescencia de las hojas. Todas estas evidencias en su conjunto sugieren, que la senescencia de las hojas puede estar modulada por otros factores independientes al desarrollo reproductivo (Fig. 1.3).

1.7. MODULACIÓN DE LA SENESCENCIA FOLIAR POR HORMONAS VEGETALES

Los procesos degradativos que configuran la senescencia foliar, están estrictamente regulados y pueden ser modulados por las hormonas vegetales (Nooden 2004; Lim *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). El funcionamiento de las

hormonas en relación a la senescencia foliar se explica mayoritariamente por la inducción de factores de transcripción (Ftr.) con dominios de unión a ADN (Lim *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). Las dos familias de Ftr. más asociadas a la senescencia son NAC y WRKY (Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021), que inducen la expresión de genes conocidos como “genes asociados a senescencia” (SAG) y/o “genes asociados al catabolismo de las clorofilas” (CCG), cuyos productos génicos demoran o aceleran el desarrollo de la senescencia foliar (Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). Las citocininas (CK) son un grupo clásico de hormonas asociadas a la demora de la senescencia foliar, mientras que el ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y el etileno están vinculados a la aceleración de la misma (Lim *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). Las giberelinas (GA) y auxinas (AUX), se han descrito tanto acelerando como retrasando la senescencia de las hojas (Chen *et al.* 2014; Taiz 2015; Zhang *et al.* 2018; Xiao *et al.* 2019) (Fig. 1.3).

La aplicación de citocininas (CK) en hojas de especies como *Xanthium strumarium* L. (Richmond & Lang 1957; Osborne & McCalla 1961), trigo (Bushnell 1966; Kuhnle *et al.* 1977) avena (Kaminek & Lustinec 1978; Badenoch-Jones *et al.* 1996), arroz (Liu *et al.* 2016), y el aumento de la concentración de CK por la transformación de plantas de tabaco con el gen de la Isopenteniltransferasa (IPT) enzima limitante de la biosíntesis de citocininas (Gan & Amasino 1995), retrasan la senescencia, indicando la relación causal entre esta hormona y el retardo de la senescencia de las hojas. En soja donde existen muchos estudios de la función de la CK en la senescencia foliar, se determinó que la aplicación de esta hormona en plantas enteras (Lindoo & Nooden 1978; Nooden *et al.* 1979; Dybing & Lay 1981a, b), o la perfusión de CK en explantos (*i.e.*, segmento de tallo, hoja y vainas) (Neumann *et al.* 1983; Garrison *et al.* 1984; Nooden 1986; Nooden & Letham 1993) demoran la senescencia de las hojas. Dado que el lugar de mayor síntesis de las CK son las raíces y se movilizan por xilema hacia la parte aérea (Van Staden & Davey 1979; Garrison *et al.* 1984; Faiss *et al.* 1997), el aumento en el contenido xilemático de las mismas frente a la demora en la senescencia por la remoción de los frutos (Nooden *et al.* 1990a, b; Nooden & Letham 1993) refuerza el hecho de la participación de estas hormonas en la senescencia (Fig. 1.3). Si bien no se conoce el mecanismo completo de acción de las CK, se describió que se unen a un receptor histidina kinasa (AHKR3) (Kim *et al.* 2006; Lin *et al.* 2007; Taiz *et al.* 2015), que “corriente abajo” activan dos Ftr. (ARR2 y CRF6) (Kim *et al.* 2006; Zwack & Rashotte 2013, Zwack *et al.* 2016) que actúan en genes de respuesta a citocininas (Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). En presencia de CK esta vía actuaría aumentando la actividad de una invertasa apoplástica (enzima hidrolítica de la sacarosa) en hojas (Balibrea Lara *et al.* 2004; Zwack & Rashotte 2013; Guo *et al.* 2021), generando un flujo fútil pero continuo de sacarosa previo a

la carga del floema, que mimetiza el flujo de este azúcar en una hoja completamente funcional, por lo que la relación fuente - destino se modifica, y de esta forma se demoraría la senescencia foliar (Balibrea Lara *et al.* 2004; Zwack & Rashotte 2013).

La aplicación foliar de giberelinas (GA) en diferentes especies como *Rumex obtusifolius* L. (Whyte & Luckwill 1966; Goldthwaite & Laetsch 1968), “lechuga” *Lactuca sativa* L. (Aharoni & Richmond 1978) y *Alstroemeria* sp. (Jordi *et al.* 1995; Kappers *et al.* 1998) demora la senescencia en las hojas. También la aplicación de GA₃ (ácido giberélico) en *Brassica rapa* subs. *Chinensis* (L.H. Bailey) Hanelt, reprime la expresión de un Ftr. WRKY (WRKY 6) que por un lado induce la expresión de SAGs (SAG 12) y CCGs, y por otro reprime la expresión de genes de la vía de síntesis de GA, lo que indica que estas hormonas participan demorando la senescencia de las hojas (Fan *et al.* 2018; Xiao *et al.* 2019). En soja la aplicación foliar de giberelinas (GA₃, GA₄₊₇) demoró la degradación de las clorofilas (Dybing & Yarrow 1984; Nooden 1986); además la aplicación de GA junto a CK tuvo un efecto sinérgico, *i.e.*, los efectos individuales de estas hormonas demorando la degradación de las clorofilas fue menor que al actuar en forma conjunta (Dybing & Lay 1981 a, b; Nooden 1986) (Fig. 1.3). En forma paradójica, en *Arabidopsis thaliana* donde más está descrita la vía de acción de las GA, las mismas inducen la degradación de proteínas con dominios DELLA (Taiz *et al.* 2015; Zhang *et al.* 2018), que son represoras de Ftr. WRKY (*v.g.*, WRKY 6, 45, 75) que promueven la expresión de SAGs (*v.g.*, SAG 12, 29) (Chen *et al.* 2017, Zhang *et al.* 2018, 2021) lo que indica que las GA participan acelerando la senescencia foliar (Fig. 1.3).

El incremento de la síntesis de auxinas (AUX) (Quirino *et al.* 1999; Lin *et al.* 2007; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021), el aumento en la expresión de genes relacionado con su síntesis (Lin *et al.* 2007; Kim *et al.* 2011a; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021), y la aplicación exógena de AUX (Lin *et al.* 2007; Taiz 2015) se han asociado a la demora de la senescencia de las hojas. En soja la aplicación de la AUX sintética ácido α naftaleno acético (NAA) (James *et al.* 1965; Nooden *et al.* 1979) generan la retención de las clorofilas en las hojas y una demora en la abscisión de folíolos y pecíolos (Fig. 1.3). También en esta especie la aplicación de ácido indol acético (IAA, la auxina más extendida naturalmente; Kasahara 2016; Leyser 2018) en hojas de soja genera que las mismas se vuelvan más verdes lo que sugiere la demora de la degradación de las clorofilas (Nooden *et al.* 1990b). En presencia de AUX, se transcriben los genes de respuesta a esta hormona (ARF2) (Taiz *et al.* 2015; Leyser 2018), que a su vez inhiben la expresión de SAGs (*v.g.*, SAG 12) (Taiz *et al.* 2015; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). Sin embargo, en forma contraria ante la aplicación de AUX también se registró un aumento de la expresión de SAGs (*i.e.*, potencialmente acelerando la senescencia, Noh & Amasino 1999).

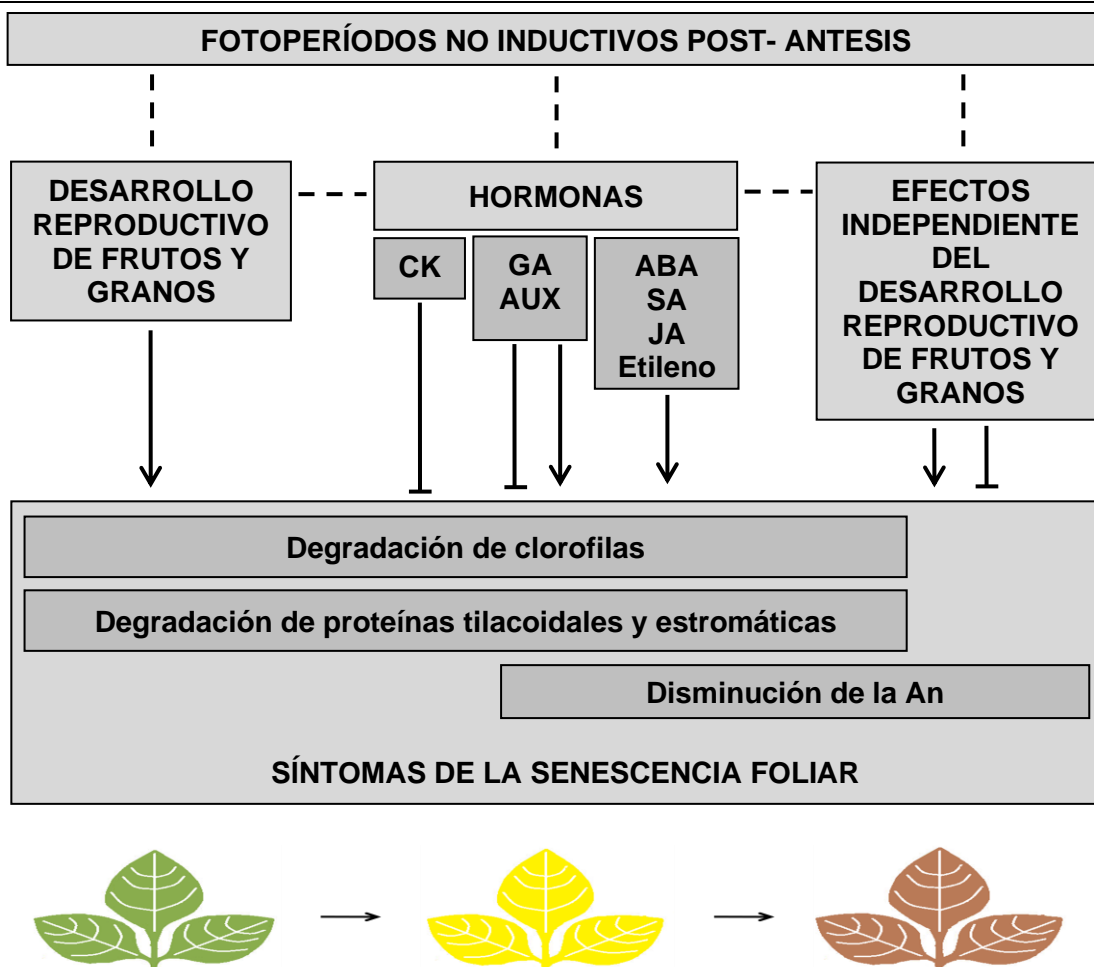


Figura 1.3. Esquema conceptual de efectos del desarrollo reproductivo de frutos y granos, de efectos independientes al desarrollo reproductivo de frutos y granos y de hormonas vegetales modulando la senescencia foliar. Las barras discontinuas (- - -) indican relaciones a estudiar en esta tesis; las barras con extremo terminados en forma de flecha (↓) y en forma perpendicular (⊥) indican relaciones establecidas bibliográficamente que indican promoción y demora de la senescencia foliar respectivamente. Las flechas horizontales (→) indican progresión de la senescencia foliar. Citocininas (CK), giberelinas (GA), auxinas (AUX), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA).

La aplicación exógena de ácido abscísico (ABA) y el aumento de su concentración foliar durante la senescencia, indican que esta hormona promueve la senescencia de las hojas (Lindoo & Nooden 1978; Mittelheuser & Stevenick 1971; Gepstein & Thimman 1980; Guiamet & Gianibelli 1994). En soja la aplicación de ABA en plantas intactas acelera la senescencia de las hojas y en menor medida la maduración de las vainas (Lindoo & Nooden 1978); en hojas desprendidas de la planta donde se indujo la senescencia por oscuridad, la aplicación de ABA acelera la degradación de clorofilas (Guiamet & Gianibelli 1994). También en esta especie, la degradación de las clorofilas y proteínas solubles antecede al incremento de la concentración de ABA, por lo que se asoció a esta hormona con la abscisión foliar (Samet & Sinclair 1980) (Fig. 1.3). A nivel celular ABA induce la expresión de un Ftr. NAC (ABF) que estimula la expresión tanto de SAGs (v.g., SAG 29) como de CCGs (v.g., PAO)

(Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021; Lee & Masclaux- Daubresse 2021). En una vía paralela a la descrita, ABA estimula otro Ftr. NAC (NAP) que incrementa la síntesis de esta hormona (*i.e.*, “*feedback*” positivo) durante el desarrollo de la senescencia foliar (Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021).

Dado que el ácido salicílico (SA) aumenta su concentración en las hojas senescentes (Lim *et al.* 2007; Taiz 2015), y además los mutantes deficientes en la ruta de su síntesis retardan la senescencia foliar (Lim *et al.* 2007; Guo *et al.* 2017; Guo *et al.* 2021), se asocia a esta hormona a la promoción de la senescencia de las hojas (Fig. 1.3). En hojas jóvenes producto de la inhibición de la síntesis de SA (Ftr. NAC 090) (Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019) y de la degradación específica de esta hormona (hidrolasas) (Zhang *et al.* 2013; Kim *et al.* 2018; Guo *et al.* 2021) la concentración de SA es baja (Kim *et al.* 2018; Guo *et al.* 2021); en cambio a medida que la hoja “envejece” el nivel de SA aumenta y estimula la expresión del Ftr. WRKY (WRKY 75) que inhibe la expresión de una catalasa (CAT 2) por lo cual aumenta el nivel de ROS, que actúan en forma no específica oxidando lípidos y proteínas (Guo *et al.* 2017; Woo *et al.* 2019). En soja la inducción de la senescencia (por altas temperaturas) disminuye la concentración de las clorofilas foliares y de la An asociado al incremento en la concentración de SA en las hojas (Bawa *et al.* 2021). Sin embargo, también en esta especie se reportó que la sobreexpresión de Ftr. GmNAC 81 (que se expresa en el desarrollo natural de la senescencia) acelera la senescencia foliar relacionado a la disminución endógena de la concentración de SA en hojas (Reis Pimenta *et al.* 2016).

La aplicación exógena de ácido jasmónico (JA) acelerando la senescencia foliar (Ueda & Kato 1980; Weidhase *et al.* 1987; Phartier 1990; Guiamet & Gianibelli 1994; Xia *et al.* 2010), sumado al aumento de la expresión de genes de la ruta biosintética durante este proceso (He *et al.* 2002; Guo *et al.* 2021), dan cuenta que esta hormona participa como un promotor de la senescencia en las hojas (Fig. 1.3). El JA se une al receptor CORONATIVE-INSENSITIVE PROTEIN 1 (He *et al.* 2002; Lin *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019), que por un lado promueve la expresión de un Ftr. MYC que actúa sobre la expresión de CCG (*v.g.*, PAO) (Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019), y por otro lado reprime un Ftr. WRKY (WRKY 57) lo que permite la inducción SAGs (*v.g.*, SAG12) (Jiang *et al.* 2014; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). En soja la aplicación de JA acelera la degradación de clorofila en hojas mantenidas en oscuridad (Guiamet & Gianibelli 1994), y también el aumento en la concentración de JA en hojas donde se indujo la senescencia por altas temperaturas, indican la participación (promoviendo) de esta hormona en este proceso degradativo (Bawa *et al.* 2021). Aunque también, se ha registrado que en plantas de soja que sobre expresan en Ftr. GmNAC 81, se acelera la degradación de clorofilas y la disminución de la An, sin cambios en la concentración endógena de JA en las hojas (Reis Pimenta *et al.* 2016).

El aumento de la síntesis de etileno en las hojas durante el desarrollo de la senescencia foliar, y la demora de la misma por la aplicación de inhibidores (*v.g.*, de la recepción y/o síntesis) de esta hormona, indican que el etileno participa como un promotor de la senescencia de las hojas (Abeles *et al.* 1988; Lin *et al.* 2007; Taiz *et al.* 2015; Guo *et al.* 2021) (Fig. 1.3). En soja, en hojas desprendidas la aplicación de etileno acelera la degradación de las clorofilas foliares (Guiamet & Gianibelli 1994), además en plantas intactas provoca la abscisión de las hojas (Xie *et al.* 1996). También en plantas donde se indujo la senescencia, la aceleración en la degradación de las clorofilas y la disminución de la An se asociaron a un incremento en la producción de etileno en las hojas (Djanaguiraman & Prasad 2010; Djanaguiraman *et al.* 2011). El etileno se une a un receptor histidina quinasa (Taiz *et al.* 2015), que corriente abajo induce la expresión de un Ftr. NAC (ORI) (Park *et al.* 2019; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). Estos Ftr. estimulan a su vez la expresión de SAGs (*v.g.*, SAG 29) y CCGs (*v.g.*, PAO) promoviendo la senescencia foliar (Qiu *et al.* 2015; Kim *et al.* 2018; Park *et al.* 2019; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021).

1.8. MODULACIÓN DE LA SENESCENCIA FOLIAR POR FOTOPERÍODOS NO INDUCTIVOS

La participación del fotoperíodo modulando la senescencia foliar está poco estudiada, con resultados fragmentarios y en ocasiones contradictorios. En soja (especie en la que casi exclusivamente se estudió este mecanismo) la demora en el desarrollo reproductivo de vainas (*i.e.*, frutos) y granos en fotoperíodos no inductivos (*i.e.*, LD) (ver sección 1.4) estuvo asociada a algún síntoma de la senescencia de las hojas. En esta especie los LD posteriores a antesis retardaron la abscisión de las hojas, manteniendo por más tiempo el área foliar de las plantas (Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984b). Consecuentemente con la demora de la abscisión foliar, bajo LD post-antesis existió un retraso en el “*amarillamiento*” de las hojas (Han *et al.* 2006) y una mayor concentración de clorofilas foliares (*i.e.*, menor degradación de clorofilas) en comparación con SD (Guiamet & Nakayama 1984a); sin embargo, también en los LD se registró una disminución de la concentración de las clorofilas en relación a los SD, o una ausencia de efecto del fotoperíodo dependiendo de la edad de las hojas (Guiamet *et al.* 1986). También bajo LD posteriores a antesis se reportó una menor degradación de las proteínas solubles foliares (posiblemente de Rubisco⁸, la proteína soluble más abundante en especies C₃) (Guiamet & Nakayama 1984 a; Guiamet *et al.* 1986), y un incremento del coeficiente de

⁸ Rubisco hace referencia a la enzima Ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa oxigenasa.

asimilación neta (CAN⁹, un estimador de la fotosíntesis del canopeo a lo largo del tiempo; Radford 1967) (Guiamet *et al.* 1986), lo que sugeriría la permanencia de la An en esta condición fotoperiódica. En forma similar a soja, en otra especie de “día corto” como quínoa y en una de “día largo” como trigo, se reportó que en fotoperíodos no inductivos post-antesis se prolongó este período junto con una mayor duración de canopeo o del área foliar verde (Thorne *et al.* 1968; Christiansen *et al.* 2010), lo que indicaría una demora de la senescencia foliar.

Por último, en relación a un posible efecto del fotoperíodo no asociado con el desarrollo reproductivo, en soja la remoción de flores y vainas, y la exposición bajo LD mantiene el crecimiento vegetativo al momento que bajo SD las plantas están senesciendo. En forma similar en la especie de “día corto” *Xanthium stromarium* L., la remoción de los primordios florales y la exposición bajo LD prolongar la vida de las plantas en relación a las plantas sin flores y en SD (Krizek *et al.* 1966). Por otro lado, en forma contraria en *Senecio articulatus* (Haw.) Sch. Bip, especie de “día corto” para la floración (Schwabe 1970a), las hojas desprendidas de la planta y colocadas bajo LD mueren antes que en SD (Schwabe 1970b). El conocimiento fragmentario expresado en esta sección y en base a los conocimientos más consolidados de otras secciones, fomentan el desarrollo de un estudio sobre el efecto de los fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis en la senescencia foliar y procesos asociados a la misma en especie de “día corto” y “día largo” para la floración.

1.9. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO DE LA TESIS

El objetivo general de esta tesis fue *“determinar si los fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis en especies de “día corto” y “día largo” para la floración participan en la regulación de la senescencia foliar y procesos asociados a la misma, y dilucidar posibles mecanismos subyacentes a esta respuesta”*.

Para abordar el objetivo general se trabajó con los siguientes objetivos específicos e hipótesis derivadas de los mismos:

Objetivo 1. *Establecer si existe una demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos en especies de “día corto” y “día largo” bajo fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis.*

⁹ En esta tesis se reemplaza la denominación tasa de asimilación neta (NAR) frecuentemente utilizada en la fisiología vegetal por coeficiente de asimilación neta (CAN), para evitar una posible ambigüedad con la medición de asimilación neta de dióxido de carbono a saturación (An) y el cálculo de su tasa de disminución durante la post-antesis.

Hipótesis 1: Bajo fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis las especies de “día corto” y “día largo” demoran su desarrollo reproductivo de frutos y granos.

Objetivo 2. *Determinar si se modifica el ritmo de la degradación de las clorofilas foliares ante la exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en post- antesis en especies de “día corto” y “día largo” para la floración.*

Hipótesis 2: La exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “día largo” durante la post-antesis retrasan la degradación de las clorofilas foliares durante este período.

Objetivo 3. *Registrar posibles cambios en la asimilación neta de dióxido de carbono en especies de “día corto” y “día largo” para la floración sometidas a fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis.*

Hipótesis 3: La exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “día largo” posteriormente a antesis prolonga la asimilación neta de dióxido de carbono.

Objetivo 4. *Definir si existe un cambio en la concentración de hormonas foliares relacionadas con la senescencia de las hojas ante la exposición a fotoperíodos no inductivos en post- antesis en la especie de “día corto” soja.*

Hipótesis 4: En soja la exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en post-antesis aumenta y disminuyen la concentración de hormonas foliares relacionadas con la demora y aceleración respectivamente de la senescencia de las hojas.

Objetivo 5. *Establecer si existe una modificación en la producción de la biomasa total ante la exposición a fotoperíodos no inductivos en post- antesis en especies de “día corto” y “día largo” para la floración.*

Hipótesis 5: La exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “día largo” aumentan la producción de biomasa total durante la post- antesis.

Objetivo 6. *Definir si las tasas de crecimiento cambian ante fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “día largo” durante este período.*

Hipótesis 6: Bajo fotoperíodos no inductivos de la floración las tasas de crecimiento cambian durante la post-antesis en especies de “día corto” y “día largo”.

Objetivo 7. *Determinar si los posibles cambios de la senescencia y los procesos asociados a la misma en fotoperíodos no inductivos posteriores a la antesis en especies de*

“día corto” y “día largo” están únicamente asociados a cambios en el desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto indirecto del fotoperíodo), o si también existen procesos parcialmente independientes del desarrollo reproductivo de frutos y granos (efectos directos del fotoperíodo).

Hipótesis 7: En fotoperíodos no inductivos posteriores a la antesis en especies de “día corto” y “día largo” parte del cambio en la senescencia foliar y los procesos asociados a la misma serán vinculados al desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto indirecto) y otra parte serán parcialmente independientes del desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto directo).

1.10. ESTRUCTURA DE LA TESIS

Esta tesis, además de la presente introducción general (Cap. I) está formada por cuatro capítulos de resultados (II - V). En cada uno de ellos se explicitan las preguntas y objetivos de investigación específicos, los materiales y métodos utilizados para abordar los objetivos, los resultados y la discusión de los mismos, y una conclusión de ese capítulo. En los capítulos II a IV se abordan todos los objetivos específicos, a excepción del objetivo 4, utilizando como casos de estudio las siguientes especies de “día corto” para la floración: soja (Cap. II y V), quínoa y amaranto (Cap. III), y las siguientes especies de “día largo”: trigo, cebada, centeno y avena (Cap. IV). En el capítulo V, utilizando soja como caso paradigmático, también se aborda el objetivo específico 4. En el capítulo VI a partir de la contrastación de las hipótesis con los resultados obtenidos, se incluyen las principales conclusiones alcanzadas, y se discute brevemente la posible contribución de la presente tesis al cuerpo de conocimientos de la disciplina.

RETARDO DE LA SENESCENCIA FOLIAR, INCREMENTO DE LA BIOMASA Y DE LA TASA DE CRECIMIENTO, Y AUMENTO DEL CONTENIDO DE NITRÓGENO EN SOJA EXPUESTAS A DÍAS LARGOS EN POST- ANTESIS

2.1. INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max.* L. Merr.) es el cuarto cultivo a nivel mundial en relación al área cultivada (129 millones ha año⁻¹), con un comercio de granos¹ en el orden de los 121.000 millones de dólares anuales (FAOSTAT 2020). El interés en la soja por un lado radica en que es el cultivo de verano que produce los granos con el mayor contenido proteínico y el segundo en contenido de aceites (Sinclair & De Wit 1975; Hartman *et al.* 2011). Por otro lado, su atractivo es que su cultivo se extiende desde los 46 ° Norte a los 39 ° Sur de latitud, lo que muestra su amplia adaptación a diferentes ambientes (Dardanelli *et al.* 2006; Zhang *et al.* 2007; Zhai *et al.* 2014; Mourtzinis & Conley 2017).

El principal factor ambiental que cambia con la latitud, además de la temperatura, es el fotoperíodo. En soja la capacidad de percibir el cambio en el fotoperíodo y las diferentes sensibilidades entre genotipos para inducir la floración, ha permitido clasificar a las mismas en grupos de madurez (GM²) (Langewisch *et al.* 2017; Li *et al.* 2017; Lin *et al.* 2021). Los GM bajos (000-0) florecen indistintamente de la duración del día al que están sometidos, en cambio los GM medios (III-VI) y altos (VII-X) necesitan estar expuestos a fotoperíodos cortos (SD) para promover la floración, *i.e.*, la floración no ocurre o se retrasa si se supera un determinado umbral fotoperiódico (Borthwick & Parker 1938; Caffaro & Nakayama 1988, Caffaro *et al.* 1988; Thomas & Vince-Prue 1997b; Zhang *et al.* 2001; Wu *et al.* 2015). Además de promover la floración, el fotoperíodo afecta el desarrollo posterior a la misma en soja (Thomas & Raper 1976; Guiamet & Nakayama 1984a; Kantolic & Slafer 2001; Nico *et al.* 2015). En plantas expuestas a fotoperíodos no inductivos (*i.e.*, día largo para la soja) posteriores a floración/antesis³ la duración de las etapas del desarrollo reproductivo se alarga (Guiamet & Nakayama 1984a; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Asamadu *et*

¹ Con el objetivo de mantener un lenguaje homogéneo y poder comparar entre las especies estudiadas en esta tesis, se nombran las semillas (en soja) y las semillas fusionadas con pericarpio del fruto (en quinoa, amaranto, trigo, cebada, avena y "centeno" *Secale cereale* L.) con el término "grano".

² Para una descripción de los grupos de madurez en soja ver capítulo I (Introducción General, objetivos e hipótesis de trabajo) de esta tesis.

³ En soja, la floración de acuerdo a la escala fenológica adoptada (Fehr & Caviness 1977) en esta tesis y ampliamente utilizada en la literatura especializada, se determina en el momento de aparición de una flor abierta *i.e.*, antesis (ver descripción tabla 2.1); por lo cual en esta escala no existe una diferencia entre la observación de las flores (floración) en la planta y su posterior apertura (antesis). Dado que en todas las especies utilizadas en esta tesis los tratamientos fotoperiódicos se impusieron posteriormente a la antesis, para soja se adopta también de aquí en más el término post-antesis en lugar de post-floración.

al. 1998). En algunos casos esto es producto de un retraso en la transición de los meristemas (*i.e.*, de aquellos meristemas que todavía no están diferenciados) desde el estado vegetativo al reproductivo (Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988), y en otros casos incluso hay una reversión de los meristemas (*i.e.*, meristemas ya diferenciados) desde el estado reproductivo al vegetativo (Washburn & Thomas 2000; Han *et al.* 2006). También el incremento en la duración de la post- antesis en días largos (LD) se explica por la disminución en la tasa de desarrollo reproductivo (Guiamet & Nakayama 1984b; Morandi *et al.* 1987; Nico *et al.* 2016), en el cual la elongación de las vainas (*i.e.*, frutos) y llenado de los granos se posponen, y eventualmente la maduración de los frutos se retrasa (Guiamet & Nakayama 1984b ; Kantolic & Slafer 2001, 2005).

El retraso del desarrollo reproductivo de vainas y granos bajo LD post- antesis está asociado con el incremento en el peso del tallo y ramificaciones, y el aumento en el número de nudos a madurez de cosecha (Guiamet & Nakayama 1984a; Caffaro & Nakayama, 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005; Nico *et al.* 2015). En GM medios (*v.g.*, GM III, IV) el aumento en LD post-antesis del número de nudos (sitios potenciales de generación de vainas) se asocia positivamente con el aumento en el número de vainas (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005; Kantolic *et al.* 2007, 2013; Nico *et al.* 2015, 2016) sin cambios en el número de granos por vaina (Kantolic & Slafer 2005; Kantolic *et al.* 2013). Consecuentemente con el aumento en el número de vainas se incrementa el número de granos por planta (Guiamet & Nakayama 1984 a, b; Morandi *et al.* 1988) y por área de suelo (Kantolic & Slafer 2001, 2005; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015) en condiciones semicontroladas y de campo respectivamente. En la mayoría de los reportes, en los LD post-antesis junto al aumento del número de granos disminuyó el peso individual de los mismos (Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984 a, b; Morandi *et al.* 1988, Kantolic & Slafer 2005; Kantolic *et al.* 2007, 2013), por lo que no siempre los LD incrementaron el rendimiento del peso de granos por planta o área de suelo (Guiamet *et al.* 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Nico *et al.* 2015).

Como se explicó previamente, bajo LD post-antesis se demora el desarrollo reproductivo de vainas y granos prolongando la duración de esta etapa, por lo que el incremento en la biomasa acumulada podría ser explicado al menos en parte por una asimilación de carbono (C) y nitrógeno (N) por más tiempo; esto implica un efecto del fotoperíodo sobre la producción de la biomasa, mediado por el desarrollo reproductivo de vainas y granos, *i.e.*, efecto indirecto del fotoperíodo. Sin embargo, en relación al C en LD post-antesis se reportó un aumento diario en el coeficiente de asimilación neta (CAN⁴) durante

⁴ En esta tesis se reemplaza la denominación tasa de asimilación neta (NAR) por coeficiente de asimilación neta (CAN), para evitar una posible ambigüedad con la medición de asimilación neta de dióxido de carbono a saturación (An) y el cálculo de su tasa de disminución durante la post-antesis.

la primera parte del desarrollo reproductivo (Guiamet *et al.* 1986), lo que sugiere un efecto sobre la generación de biomasa al menos parcialmente independiente del desarrollo de las vainas y granos (*i.e.*, efecto directo del fotoperíodo). Se desconoce si el aumento de la biomasa bajo LD post- antesis está asociado únicamente a una prolongación en la asimilación de C (efecto indirecto del fotoperíodo) o también podría estar modificada la tasa de asimilación de C (efecto directo del fotoperíodo) durante el período reproductivo. Por otro lado, dado el alto contenido de proteínas en el grano de soja (Sinclair & De Wit 1975), el incremento en el rendimiento bajo LD post- antesis podría requerir un aumento de la fijación biológica de N atmosférico y/o de la absorción de N edáfico. Sin embargo, en condiciones semicontroladas, se registró que la imposición de LD durante el llenado, aumentó el número de granos por planta disminuyendo el peso y la concentración de N de las mismas (Cure *et al.* 1982). En soja en un medio hidropónico desprovisto de N mineral, la tasa de asimilación de N (determinada únicamente por la fijación biológica) aumentó en LD, pero a un ritmo menor que el aumento de C, por lo que la concentración de N en la biomasa reproductiva y también vegetativa disminuyó (Guiamet *et al.* 1986). Los anteriores reportes sugieren que el aumento de biomasa bajo LD post- antesis sería acompañado de una disminución en la concentración de N; sin embargo, estos resultados se obtuvieron en condiciones semicontroladas y su extrapolabilidad a condiciones de campo podría ser puesta en duda.

La mayor duración de la etapa reproductiva sumado al aumento de biomasa bajo LD post- antesis sugiere que las hojas demorarían su senescencia. Si bien no existen trabajos específicos de la influencia del fotoperíodo sobre la senescencia foliar, se registra en forma aislada síntomas de la demora de la misma en plantas de soja expuestas en LD en post- antesis (Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Han *et al.* 2006). En condiciones semicontroladas los LD en post- antesis en soja demoraron la abscisión foliar (*i.e.*, un síntoma de la senescencia de las hojas), evidenciado por el mantenimiento del canopeo o área foliar por más tiempo (Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984b). En estas mismas condiciones experimentales, las plantas expuestas bajo LD post-antesis retuvieron una mayor cantidad de clorofilas y proteínas solubles foliares (*i.e.*, síntomas de la demora de la senescencia) que las plantas en SD (Guiamet & Nakayama 1984 a); sin embargo, también los LD post-antesis no modificaron la concentración de las clorofilas foliares, o incluso disminuyeron la misma dependiendo de la edad de las hojas (Guiamet *et al.* 1986). En condiciones de campo solo se ha reportado un retardo en el “*amarillamiento*” de las hojas bajo LD post- antesis (Han *et al.* 2006). La demora de la senescencia foliar, evidenciada únicamente por la degradación de las clorofilas, no indica necesariamente que la hoja persista realmente en la asimilación de C (Thomas & Howard 2000; Hörtensteiner 2009). En soja en

Capítulo II

fotoperíodos naturales se ha reportado una demora de la senescencia foliar sin un sostenimiento de la asimilación neta de dióxido de carbono (A_n), lo que indica un mantenimiento “*cosmético*” de las clorofilas (Guiamet *et al.* 1990). Se desconoce si bajo LD post- antesis en condiciones de campo existe una demora de la degradación de las clorofilas acompañada por la persistencia en la A_n (*i.e.*, demora funcional de la senescencia).

Considerando lo descrito anteriormente, los objetivos de este capítulo fueron determinar si en cultivares de soja de GM intermedios en condiciones de campo la imposición de días largos post-antesis: 1- Retarda la degradación de las clorofilas y prolonga la asimilación neta de dióxido de carbono; 2- Aumenta la producción de biomasa producto únicamente de un mayor tiempo de asimilación y/o debido a un incremento en la tasa de asimilación de carbono; 3- Incrementa la asimilación de nitrógeno y se altera la proporción de nitrógeno proveniente de la absorción de N mineral y de la fijación biológica de N.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Cultivo de plantas y tratamientos fotoperiódicos

Se llevaron a cabo dos experimentos en condiciones de campo en La Plata, Argentina ($34^{\circ} 55' S$, $57^{\circ} 58' O$) en las campañas 2016-17 y 2018-19. En el primer experimento (campaña 2016-17), realizado en la Estación Experimental J. Hirschhörn (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF), Universidad Nacional de La Plata (UNLP)) se utilizaron dos cultivares (*cvs.*) de soja de crecimiento indeterminado (NS4619 y NS5019, Nidera Semillas, Argentina) y en la segunda campaña (2018-19) realizada en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE- FCAyF y Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP- CONICET) se incluyó solamente el *cv.* NS4619. Los *cvs.* NS4619 y NS5019 utilizados corresponden a grupos de madurez IV y V respectivamente, de sensibilidad intermedia al fotoperíodo para la floración y de uso habitual en esta región. El suelo fue un Argiudol vértico (clasificación según USDA) de textura fina y una capa subyacente (a 40 cm de profundidad) de arcilla expandible. Previo a la siembra, las parcelas fueron fertilizadas con el equivalente de 100 kg ha^{-1} de superfosfato triple y 50 kg ha^{-1} de sulfato de calcio. Los granos fueron inoculados con *Bradyrhizobium sp.* (NITRAP MAX – NITRAP SRL., Argentina) y sembrados manualmente el 18 de noviembre del año 2016 y el 7 de diciembre del año 2018, en filas separadas por 0.5 m y con una densidad de $30 \text{ plantas m}^{-2}$. Las parcelas fueron mantenidas libres de competencia por malezas y de insectos mediante técnicas agronómicas convencionales. La deficiencia hídrica fue evitada suplementando a las lluvias con riego por goteo.

El primer experimento (campaña 2016-17) tuvo un diseño en parcelas divididas, con cultivos en la parcela principal y tratamientos en la subparcela (4 hileras de plantas, 2 m de longitud por hilera). El segundo experimento (campaña 2018-19) tuvo un diseño en bloques completamente aleatorizado, donde cada bloque (4 hileras de plantas de 3 m de longitud) tenía un tratamiento. En ambos experimentos hubo 3 subparcelas o bloques como réplicas en cada condición fotoperiódica. Al inicio de la floración/antesis (R1 según Fehr & Caviness 1977-Tabla 2.1) dos condiciones fotoperiódicas fueron impuestas: fotoperíodo natural (control, fotoperíodo inductivo, SD) y fotoperíodo extendido (fotoperíodo no inductivo, LD). El fotoperíodo extendido se generó alargando la duración del día con 4 h de luz artificial a partir de la puesta del sol por lámparas de diodos emisores de luz (LED). Las lámparas se ubicaron en estructuras “porta lámparas”, lo cual permitió elevarlas a 1.6 m de altura desde el suelo (Fig. 2.1). Para evitar posibles efectos del sombreado por parte de las estructuras, en los tratamientos de SD también se montaron los soportes, pero estos no portaban lámparas. Las lámparas generaban 8-9 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa (PAR) (RADIAPAR, Cavadevices, Argentina), y una relación roja/rojo lejano (fluencia a 660nm/fluencia a 730 nm) igual a 1.4 (USB650, Red Tide, Ocean Optics, Estados Unidos) (*i.e.*, levemente superior a la luz solar directa) en el nivel superior (externo) del canopeo. La densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD) correspondiente al PAR generado por las lámparas estaba por debajo del punto de compensación en soja (*ca.* 41 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ según Gonzales *et al.* 2019), por lo que es insuficiente en términos fotosintéticos para acumular fotosintatos. Los tratamientos fotoperiódicos dentro de cada parcela o entre bloques estuvieron separados por al menos 2 m. En un experimento previo realizado en forma exploratoria, no se detectó ningún efecto de las lámparas (LD) en diversas variables tales como días a floración, número de flores y vainas, al disponer los tratamientos fotoperiódicos con esta separación.

Tabla 2.1. Escala fenológica post- antesis adaptada a partir de Fehr & Caviness (1977).

Estado fenológico (código fenológico)	Descripción
Inicio de floración/antesis (R1)	Una flor abierta (antesis) en cualquier nudo del tallo.
Floración/antesis completa (R2)	Una flor abierta en uno de los 4 nudos superiores del tallo.
Inicio de desarrollo de vainas (R3)	Una vaina de 5 mm en uno de los 4 nudos superiores del tallo.
Vainas desarrolladas (R4)	Una vaina de 20 mm en uno de los 4 nudos superiores del tallo.
Inicio de desarrollo de granos (R5)	Una vaina con granos de 3 mm en uno de los 4 nudos superiores del tallo.
Granos desarrollados (R6)	Una vaina con granos llenando lóculo en uno de los 4 nudos superiores del tallo.
Inicio de madurez (R7)	Una vaina madura (color marrón con granos sueltos en el lóculo) en cualquier nudo del tallo.
Madurez de cosecha (R8- MC)	95 % de las vainas maduras, hojas secas y/o abscindidas, tallo seco.

2.2.2. Mediciones ambientales y fenología del cultivo

La temperatura del aire y la radiación incidente fue medida diariamente a partir de una estación meteorológica ubicada a 500 m de los experimentos (Vantage Pro2, Davis Instruments, Estados Unidos). La radiación incidente diaria global fue transformada en radiación fotosintéticamente activa (PAR) mediante el factor de conversión 0.48 (Gosse *et al.* 1986; Andrade 1995; Ojeda *et al.* 2018). La PAR acumulada (PARac) durante un intervalo fenológico o toda la post-antesis fue calculada mediante la suma de PAR diarios. En el PAR diario no se tuvo en cuenta el PAR agregado por las lámparas por ser menor que el punto de compensación lumínico (sección 2.2.1.). La radiación incidente interceptada por el cultivo fue medida con un sensor lineal (ceptómetro o “barra integradora”) de 1 m de longitud (BAR-RAD 100 - Cavadevices, Argentina), durante el mediodía (12- 13 h), ubicado a nivel del conopeo y sobre el suelo, y con una orientación perpendicular a los dos surcos centrales. La duración del fotoperíodo fue calculada a partir de la diferencia entre la salida y puesta del sol (*i.e.*, sin tener en cuenta los horarios de los crepúsculos matutino y vespertino) según el Servicio de Hidrografía Naval, Argentina (www.hidro.gov.ar).

La fenología del cultivo fue determinada cada 2-3 días y la duración de cada fase del desarrollo se corrigió por la temperatura y se expresó en día térmico (dt) a partir de la función de tres segmentos lineal descrita por Piper *et al.* (1996). La temperatura media diaria utilizada se calculó como Temperatura máxima + mínima / 2. Las temperaturas cardinales utilizadas en la función durante el desarrollo reproductivo fueron, temperatura base (7 ° C), óptima inferior (25 °C) y superior (30 °C) y temperatura máxima (45 °C) (Boote *et al.* 1998).

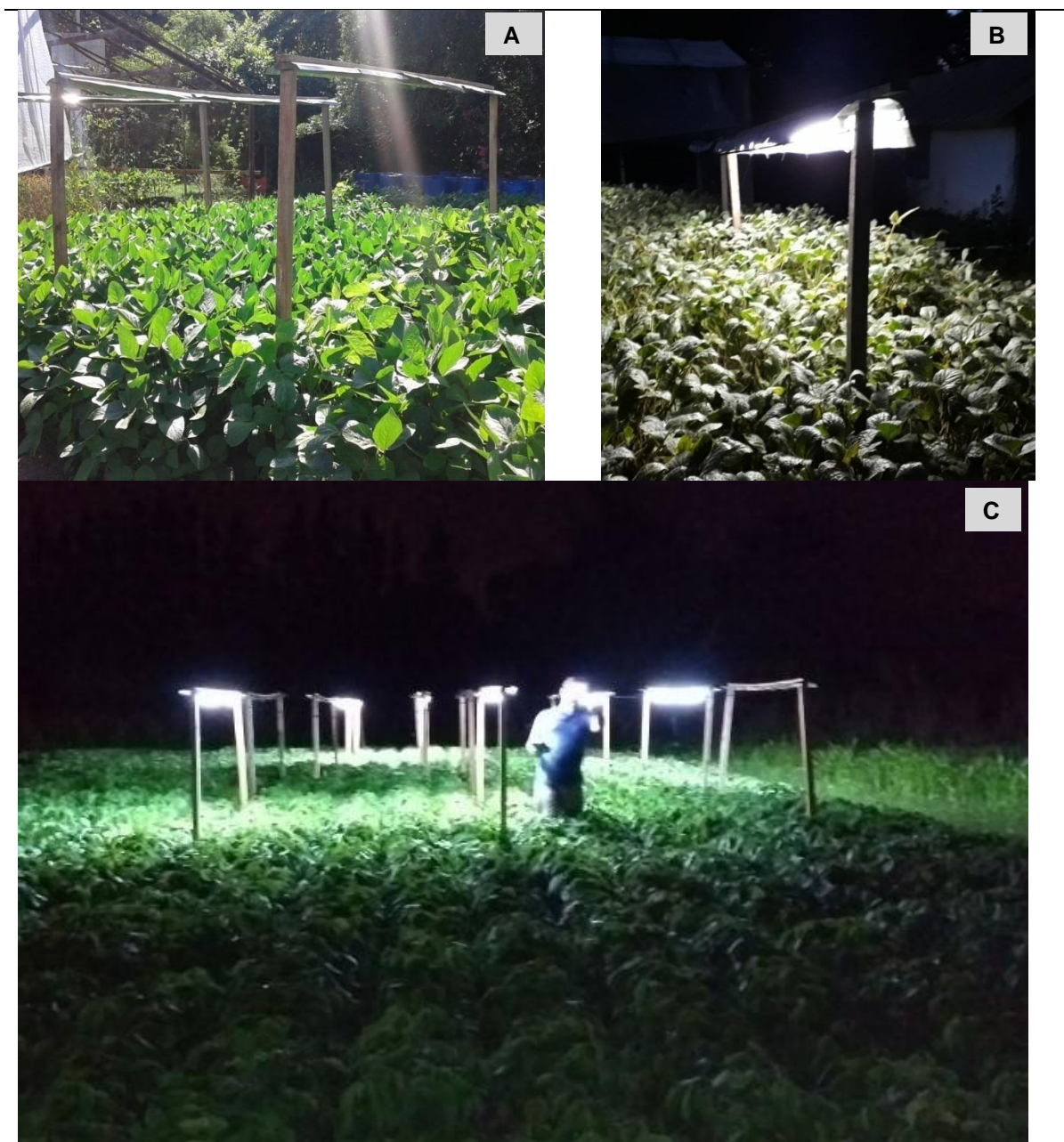


Figura 2.1. Vista general de experimento de manipulación fotoperiódica en plantas de soja en condiciones de campo campaña 2016-2017 y 2018-19. (A) y (B) Vista diurna y nocturna respectivamente de estructuras “porta lamparas” de campaña 2018-2019, (C) vista nocturna de tratamientos fotoperiódicos en campaña 2016-2017.

2.2.3. Determinación de la senescencia foliar

En los experimentos de ambas campañas a partir de la antesis (R1) se identificó con una marca la hoja más apical plenamente expandida; esta hoja estaba completamente desarrollada sin síntomas de senescencia y expuesta a luz solar directa; en el foliolo central de la misma se determinó durante toda la post- antesis semanalmente la evolución de la degradación de las clorofilas foliares y la asimilación neta de CO₂ (An) hasta su abscisión, como síntomas característicos del desarrollo de la senescencia. El seguimiento de la

Capítulo II

degradación de las clorofilas se realizó en forma no destructiva mediante la cuantificación indirecta de las clorofilas (“índice de verdor”) por medio del SPAD (SPAD 502, Konica-Minolta, Japón), cuyas mediciones tuvieron una estrecha correlación con el contenido de clorofilas foliares (Ver Cap. V). Las mediciones de SPAD se realizaron en el folíolo central de cada hoja, a partir de tres mediciones: en la región basal, media y distal de cada folíolo. A los folíolos ya abscindidos se les asignó un valor de “cero” de SPAD (degradación máxima de clorofilas), para poder analizar estadísticamente la abscisión foliar. A pesar que las hojas pueden abscindir (dependiendo de la especie) con valores diferente de “cero” de SPAD, la posible sobreestimación de la senescencia a partir de la adopción de este criterio al momento que la hoja pierde conexión con la planta afecta a ambos tratamientos fotoperiódicos.

En el experimento 2 (campana 2018- 19) una malla de nailon fue ubicada en el suelo entre filas adyacentes, cubriendo 2 m² de suelo para recoger las láminas foliares y pecíolos abscindidos. Esas mallas se revisaban diariamente, y las láminas foliares y pecíolos abscindidos se recogieron y se secaron a 60 ° C por al menos 15 días (peso constante) para su posterior pesada (balanza Mettler Toledo, Argentina). Con el peso de las láminas foliares se calculó el porcentaje acumulado del canopeo abscindido relativo al total del peso del canopeo abscindido durante toda la post- antesis. Este porcentaje de la abscisión del canopeo es la inversa de la retención de las láminas en la planta, que además de ser otro indicador de la senescencia foliar, es un síntoma de la senescencia monocárpica⁵ cuando ocurre la totalidad de la abscisión de las hojas (*i.e.*, 100 % de abscisión del canopeo).

Las mediciones de An se realizaron con un analizador de gases por infrarrojos (IRGA, CIRAS 2 Portable Photosynthesis System, PP Systems, Estados Unidos) utilizando la cámara (“pinza”) PLC6. Cada medición se realizó en días soleados en la franja central del día (entre las 11- 14:30 h), período de mayor irradiancia y An (Thomas & Hill, 1937). La cuantificación de An se realizó a saturación lumínica (An saturación o “capacidad fotosintética”), por lo que la elección de los días soleados posibilitó la aclimatación lumínica de las hojas previo a su medición. Las condiciones de la cámara de medición del IRGA fueron: PPF (irradiancia) 1500 $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (para asegurar la saturación lumínica en el caso de una especie C₃ como la soja), concentración de CO₂ 360 ppm, temperatura de 25 ° C y humedad 10 mbares. Con el fin de prevenir un sesgo temporal en las mediciones, estas se realizaron alternando subparcelas o bloques de diferentes tratamientos fotoperiódicos. En el experimento 1 además se alternó entre parcelas con diferentes cultivares. En cada determinación se cuantificó la An y el SPAD en 3-5 hojas (foliolo central) por tratamiento y cultivar.

⁵ Senescencia a nivel de toda la planta (*i.e.*, hojas, tallos, vainas), en plantas en las que existe un solo ciclo reproductivo previo a la muerte de las mismas (Nooden *et al.* 2004)

Se estableció el inicio del avance de la degradación de las clorofilas e inicio de avance de la disminución de la An como el primer día térmico (dt) en que el valor de SPAD o An tenían una tendencia clara y continúa a la disminución de estas variables. A partir de estos inicios de avance y degradación máxima de clorofilas (SPAD “cero”) o An nula ($0 \mu\text{moles CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), se calcularon las tasas de avance de degradación de las clorofilas y tasa de avance de disminución de la An ajustando una recta de regresión en este período. También se ajustó una recta o curva de regresión (dependiendo del mejor ajuste) entre las tasas de avance de la degradación de las clorofilas y de la tasa de avance de la disminución de la An, como un indicador de la asociación entre estos dos síntomas de la senescencia foliar

2.2.4. Muestreos destructivos y cálculos de biomasa

En ambos experimentos, los muestreos destructivos de biomasa aérea se realizaron en los dos surcos centrales en las subparcelas o bloques. En cada muestreo se cosechó una superficie correspondiente a 0.5 m^2 de superficie del suelo. Se realizaron tres muestreos en el experimento 1 (campaña 2016-17) en los siguientes momentos: al inicio de floración (R1 a los 13 y 6 días térmicos post- anthesis (dtpa) en NS4619 y NS5019 respectivamente), al inicio de desarrollo de granos (R5 para SD a los 41 y 34 tdp a en NS4619 y NS5019 respectivamente) y a madurez de cosecha (R8, MC). En el experimento 2 (campaña 2018-19) se realizaron 4 muestreos, en R1 (0 dtpa), R5 (25 tdp a), llenado final de grano (R6, 41 dtpa), y en R8 (MC). Debe notarse que los estadios de desarrollo corresponden a los tratamientos en SD, ya que el desarrollo reproductivo en LD está retrasado tal como se muestra en la tabla 2.3. Por lo tanto, el muestreo inicial se realizó en el mismo día calendario y misma fenología (R1), los intermedios también a mismos días calendarios, pero diferentes fenologías, y el muestreo final (R8) se realizó a diferente día calendario, pero igual estadio fenológico.

En cada muestreo las plantas se analizaron individualizando tallos primarios de ramificaciones (*i.e.*, tallos secundarios), los cuales a su vez fueron divididas en parte vegetativa y reproductiva. Se cuantificó el número de ramificaciones, nudos, vainas (*i.e.*, frutos) y granos. El área foliar (considera únicamente láminas foliares) fue medida mediante un integrador Licor 3100 Area Meter (Li-Cor, Estados Unidos). Luego del secado en estufa a (60° C) de al menos 15 días (para lograr peso seco), se pesaron (balanza Mettler Toledo, Argentina) en forma separada la lámina foliar, pecíolos junto a tallo primario o ramificación según su origen, pericarpio (*i.e.*, “pared de vainas” sin granos) y granos. Al peso conjunto de tallos primarios, ramificaciones, pecíolos y láminas se lo denominó “biomasa vegetativa”, mientras que al peso conjunto de pericarpios y granos se lo denominó “biomasa reproductiva”. El peso conjunto de biomasa vegetativa y reproductiva se denominó “biomasa total”. En el

experimento 2 (campaña 2018- 19), como se describió previamente una malla de nailon fue ubicada en el suelo entre filas adyacentes, y se recogieron diariamente las láminas foliares y pecíolos abscindidos que se secaron a 60 ° C para su posterior pesada. El conjunto de pecíolos y láminas abscindidas fue denominado “biomasa abscindida”. El peso individual de las ramificaciones y granos se calculó a partir de la razón entre el peso de las ramificaciones o granos y el número de las mismas por m² de superficie del suelo.

En ambos experimentos para estimar la partición de la biomasa producida en las plantas (*i.e.*, distribución en biomasa vegetativa y de granos) se calculó el índice de cosecha (HI) como la relación entre el peso de los granos y la biomasa aérea total a madurez de cosecha en un área determinada de 1 m² (Donald & Hamblin, 1976). Durante la post-antesis, el incremento promedio de biomasa en un período de tiempo se calculó a partir de la tasa de crecimiento del cultivo (CGR). Mientras que el incremento de biomasa promedio en relación a la biomasa existente y en relación a la superficie fotosintética se calcularon a partir de la tasa de crecimiento relativo (RGR) y el coeficiente de asimilación neta (CAN) respectivamente. Todos los anteriores índices de crecimiento fueron calculados según las ecuaciones (modificada⁶) en Radford (1967):

$$CGR = (P_2 - P_1) / (dt_2 - dt_1)$$

$$RGR = (\ln P_2 - \ln P_1) / (dt_2 - dt_1)$$

$$CAN = (P_2 - P_1) (\ln Af_2 - \ln Af_1) / (Af_2 - Af_1) (dt_2 - dt_1)$$

donde **P** es el peso de la biomasa, **Af** es el área foliar, **dt** es día térmico, 1 y 2 son subíndices que representan diferentes tiempos de muestreo.

A partir de la medición del área foliar, se calculó el índice de área foliar (**LAI = área foliar/ área de suelo**) y el área foliar específica (**SLA= área foliar/ peso lámina foliar**). También se calculó la relación entre el peso del área foliar y la biomasa total (**LWR**, proporción del peso del área foliar). Todas las anteriores relaciones se calcularon según Beadle (1985).

2.2.5. Mediciones y cálculo del contenido de nitrógeno

En ambos experimentos se midió la concentración (%) de nitrógeno (N) en muestras secas mediante micro Kjeldhal (McKenzie & Wallace, 1954) en el laboratorio LABSPA-CERZOS (Universidad Nacional del Sur – CONICET, Argentina). En ambas campañas se analizaron las láminas foliares, pecíolos en conjunto con tallo primario o ramificación según su origen, y granos. Además, en el experimento 2 (campaña 2018-19) también se analizó el contenido de N de las láminas foliares y pecíolos abscindidos (recolectadas tal como se

⁶ Las ecuaciones originales de Radford (1967) utilizan el tiempo en días calendarios. En este capítulo de la tesis el tiempo utilizado es el día térmico (dt).

describió previamente). La concentración de N fue multiplicada por la materia seca producida por m⁻² de superficie de suelo para estimar el contenido de N en el cultivo. La acumulación de N en la biomasa vegetativa considera el contenido de este elemento en tallo, ramificaciones, pecíolos y láminas foliares (al igual que en sección 2.2.4). El contenido de N en la biomasa reproductiva se determinó únicamente en los granos (*i.e.*, sin tener en cuenta el contenido de N de los pericarpios); por lo que el contenido de este elemento en la biomasa total considera el N acumulado en la biomasa vegetativa y de granos. Como una estimación de la partición del N en la planta, se calculó el índice de cosecha del nitrógeno (NHI), como la relación entre el contenido de nitrógeno en los granos y en la biomasa aérea total (Tamagno *et al.* 2017).

En el experimento 2 (campaña 2018-2019) se determinó el porcentaje de N derivado de la fijación biológica de N₂ (BNF) a partir del método de la abundancia relativa del isótopo ¹⁵N. Este método se basa en la diferencia de la relación de los isótopos ¹⁴N / ¹⁵N entre el N proveniente del suelo (*v.g.*, NO₃, NH₄) y el N₂ atmosférico, usando como referencia un genotipo de soja que no fija N₂ atmosférico. Por lo tanto, su materia seca tiene la misma “firma” isotópica (relación ¹⁴N / ¹⁵N) que la del suelo (Peoples *et al.* 1989). Para tal fin, en este experimento, se intercalaron al azar tres hileras de una isolínea no modulante del *cv.* Bragg (nod 139 - *afr5* –mutant, Matthews *et al.* 1989). La abundancia del isótopo ¹⁵N fue medida mediante espectrometría de masas (Flash 2000 elemental analyzer coupled to a Thermo Delta V Advantage isotope ratio Mass Spectrometer, Estados Unidos) en el laboratorio LIECA – IANIGLA (Facultad Regional San Rafael, Universidad Tecnológica Nacional – CONICET, Argentina). El porcentaje de BNF fue calculada como en Peoples *et al.* (1989) siguiendo la ecuación:

$$\% \text{BNF} = ((\delta^{15}\text{N Bragg} - \delta^{15}\text{N NS4619}) / (\delta^{15}\text{N Bragg} - B)) 100$$

donde $\delta^{15}\text{N}$ es la parte por mil de ¹⁵N, **Bragg** es la variedad de referencia no “nodulante”, **NS4619** son las plantas expuestas bajo SD o LD, y **B** es la abundancia natural de ¹⁵N en plantas solo creciendo con fijación biológica como fuente de N. El valor de B fue previamente establecido como 1.032 por Collino *et al.* (2015). El N tomado del suelo fue calculado como la diferencia entre el nitrógeno total en planta menos el nitrógeno proveniente de la BNF (Santachiara *et al.* 2017).

2.2.6. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se modelaron a partir de modelos lineales mixtos (mlg) o modelos lineales generalizados mixtos (mlgm), donde el factor fijo fue el tratamiento fotoperiódico post-antesis y el factor aleatorio fue la parcela (campaña 2016-17) o el bloque (campaña 2018-19). Además del efecto del tratamiento, se analizó la posible interacción con

Capítulo II

otras posibles fuentes de variación (*i.e.*, año, cultivar). En ambas campañas cada tratamiento tuvo 3 repeticiones (*i.e.*, parcelas o bloques). Se comprobó la distribución normal de los datos a partir del Test de Shapiro Wilk ($P < 0.05$), y en caso de cumplirlo se usó un mlg y en caso de no cumplirla se utilizó un mlgm (Distribución Poisson, Binomial negativa, Gamma) donde se comprobó que no existiese sub o sobre parametrización del modelado de los datos (“*deviance*”/ grado de libertad ≈ 1). También se comprobó la homogeneidad de la varianza a partir de la prueba de Levene ($P < 0.05$), en caso de no cumplirla al modelo se le agregó una varianza heterogénea (función Var Ident). Los ANOVAS de los modelos mixtos se analizaron a 3 niveles de significancia estadística ($P < 0.05, 0.01, 0.001$).

Las mediciones repetidas en el tiempo (contenido de clorofila determinado por SPAD y An) se analizaron como datos longitudinales. Como factor fijo se utilizó el tratamiento fotoperiódico post-antesis, el tiempo y la interacción tratamiento-tiempo, y como factor aleatorio la parcela o bloque. Se agregó una estructura de correlación (simetría compuesta, sin estructura, autorregresiva continua de orden 1) entre parcelas o bloques a lo largo del tiempo y se modeló la varianza de ser necesario. Cuando existió más de un modelo longitudinal posible, se seleccionó el de menor valor de Akaike (AIC) (Di Rienzo *et al.* 2017). Las contrastaciones lineales dentro de un mismo tiempo entre tratamientos fotoperiódicos se analizaron a 3 niveles de significancia ($P < 0.05, 0.01, 0.001$).

La tasa de avance de la degradación de las clorofilas y la tasa de avance de disminución de la An se calculó mediante el ajuste de una recta de regresión. Para ello se utilizaron como factores fijos el tratamiento, tiempo y sus interacciones, y como factores aleatorios, la parcela o el bloque. Por otro lado, también para relacionar el avance de la degradación de las clorofilas y la tasa de avance de la disminución de la An se ajustó una recta o curva de regresión (dependiendo del mejor ajuste), donde se utilizó la variable SPAD como covariable de la An. En este caso el factor fijo fue el tratamiento y el aleatorio nuevamente la parcela o el bloque. En todos estos análisis de regresión, se adjuntó una estructura de correlación entre las parcelas o bloques y se modeló la varianza de ser necesario (varianza heterogénea, exponencial, potencia, potencia corrida por una constante). A partir de la elección del mejor modelo (criterio de AIC), se comprobó que cumpliera el supuesto de distribución normal y de distribución aleatoria de los residuos “estudentizados” en función de los predichos. Se comprobó que las rectas o curvas ajustadas sean significativamente diferentes de cero (*i.e.*, asociación significativa entre variables), y cumpliendo esto se calculó el coeficiente de determinación (r^2) para cada tratamiento fotoperiódico post-antesis. Las diferencias estadísticas entre tratamientos se analizaron a tres niveles de significancia ($P < 0.05, 0.01, 0.001$).

El programa estadístico utilizado fue InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020), que implementa una interfaz amigable con R para la estimación de los modelos mixtos a través de

las funciones `gls` y `lme` de la librería `nlme` (Pinheiro *et al.* 2020), función `glm` librería `stats` (R Core Team 2020) y `glmer` de la librería `lme4` (Bates *et al.* 2011). Los gráficos se realizaron con el programa Excel versión 2016 (Microsoft Office Professional Plus 2016).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Condiciones ambientales y respuestas fenológicas

En ambos experimentos durante la fase reproductiva para cada intervalo fenológico, el fotoperíodo promedio fue de al menos 3 h mayor en el tratamiento en LD en comparación al tratamiento de SD (Tabla 2.2). Esto fue producto de que las 4 h de extensión de luz se agregaron al fotoperíodo natural (SD), el cual declina constantemente luego del solsticio de verano (Fig. suplementaria 2.1), y de la mayor duración de la post- antesis bajo LD (Tabla 2.3; Fig. suplementaria 2.1); de esta forma, el fotoperíodo para cada etapa del desarrollo en LD fue un poco menor de las 4 h estipuladas. Bajo LD en ambas campañas se prolongó la duración de varias de las etapas fenológicas. Cuantificados en “días calendario”, los intervalos fenológicos R1-R3 y R3-R5 fueron mayores en LD; expresados en “días térmico” (dt) también fueron entre un 42-58 % y 26-30 % más largos en relación de SD (Tabla 2.3). La duración del intervalo R5-R8 expresado en días calendario fue mayor bajo LD en relación de SD; mientras que al expresarlo en dt en la campaña 2016-17 la duración en LD fue entre un 5-13% menor que en SD, y en 2018-2019 fue apenas un 3.5 % mayor en LD en comparación de SD (Tabla 2.3)

En ambas campañas las temperaturas medias durante el intervalo R1- R3 y R3-R5 fueron similares entre tratamientos, sin embargo, durante R5-R8 fueron entre 3.9 - 5.3 ° C significativamente menores bajo LD en relación de SD, producto que el estadio R8 se alcanzó ya entrado el otoño en este tratamiento (Tabla 2.2; Fig. suplementaria 2.1). Por otra parte, en ambos experimentos, la radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) durante los intervalos R1-R3 y R3-R5 fue más alta en el tratamiento LD en relación de SD (42-58 % mayor en R1-R3, y 14-31 % en R3-R5). En cambio, la PARac fue mayor en R5-R8 en SD (14-32%), a consecuencia de que el intervalo fenológico R5-R8 ocurrió más tardíamente en el año (*i.e.*, ingresando al otoño) en LD (Tabla 2.2; Fig. suplementaria 2.1).

Tabla 2.2. Fotoperíodo y temperatura promedio, y radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) durante diferentes intervalos de la post-antesis en plantas de soja cvs. NS4619 y NS 5019 expuestas a tratamientos de fotoperíodo corto (SD) y largos (LD) en las campañas 2016-17 y 2018-19. R1, R3, R5 y R8 corresponden a los estados fenológicos según la escala fenológica de Fehr & Caviness (1977).

Campaña Cultivar	Tratamiento	Fotoperíodo (h)			Temperatura (°C)			PARac (MJ m ⁻²)		
		R1-R3	R3-R5	R5-R8	R1-R3	R3-R5	R5-R8	R1-R3	R3-R5	R5-R8
2016-17										
NS 4619	SD	14.3	13.8	12.7	24.5	24.0	22.8	185.5	257.0	623.9
	LD	18.0	17.0	15.7	24.2	25.0	17.5	443.5	299.9	437.9
NS 5019	SD	14.1	13.5	12.3	ns	ns	**	212.4	290.8	554.2
	LD	17.9	16.9	15.5	24.5	23.9	21.1	366.6	364.9	386.3
2018-19										
NS 4619	SD	13.7	13.3	12.3	24.1	24.0	17.2	106.4	196.3	510.7
	LD	17.5	16.7	15.5	ns	ns	**	220.4	283.4	463.3

Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La PARac se calculó por la sumatoria de radiación global incidente diaria transformada por el factor 0.48 en cada intervalo. Ver materiales y métodos para una descripción más detallada.

Tabla 2.3. Duración de los intervalos fenológicos en “días térmicos” y “días calendario” (entre paréntesis) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS 5019 expuestas a tratamientos de fotoperíodo corto (SD) y largos (LD) durante post-antesis en las campañas 2016-17 y 2018-19. R1, R3, R5 y R8 corresponden al estadio reproductivo según la escala fenológica de Fehr & Caviness (1977). Los datos consignados como “Dif.” corresponden a la diferencia de duración entre los tratamientos SD y LD.

Campaña Cultivar	Tratamiento	Duración intervalos fenológicos			
		R1-R3	R3-R5	R5-R8	R1-R8
2016-17					
NS4619	SD	15.2 (16)	19.2 (21)	54.0 (68)	88.4 (105)
	LD	34.4 (37)	27.6 (29)	46.8 (80)	108.8 (146)
	Dif.	19.2 (21)	8.4 (8)	-7,2 (12)	20.4 (41)
NS5019	SD	15.9 (17)	23.9 (26)	51.8 (68)	91.6 (111)
	LD	27.6 (30)	37.7 (36)	41.7 (73)	107.0 (139)
	Dif.	11.7 (13)	13.8 (10)	-10.1 (5)	15.4 (28)
2018-19					
NS4619	SD	7.1 (8)	16.1 (18)	41.3 (59)	64.5 (85)
	LD	15.9 (18)	23.0 (28)	42.8 (75)	81.7 (121)
	Dif.	8.8 (10)	6.9 (10)	1.5 (16)	17.2 (36)

La Dif. se calculó como la duración a LD menos la duración a SD.

2.3.2. Degradación de clorofilas foliares, abscisión foliar y asimilación neta de dióxido de carbono en días largos en post-antesis

En ambos experimentos los valores de SPAD, adoptados como una medida indirecta de la degradación de las clorofilas foliares, disminuyeron más lentamente en plantas de soja expuestas bajo LD en relación de SD (Fig. 2.2, 2.3). Bajo SD el inicio de avance de la degradación de las clorofilas (*i.e.*, primer valor de SPAD a partir del cual los valores de esta variable disminuyen progresivamente en el tiempo) antecedió al tratamiento bajo LD en 23 y 11 dt en cvs. NS4619 y NS5019 respectivamente en el experimento 1 (campaña 2016-17), y en 18 dt en el experimento 2 (campaña 2018-19) (Fig. 2.2, 2.3). El inicio del avance de la degradación de las clorofilas en plantas expuestas bajo LD fue a los 85 y 72 dtpa en cvs. NS4619 y NS5019 en la campaña 2016-17, y 69 dtpa en la campaña 2018-19, correspondiente con el estadio fenológico R5-6 o R6 (Fig. 2.2, 2.3). Además de un inicio de avance de degradación de las clorofilas más tardío, se detectó a partir de los 67 y 60 días térmicos post-antesis (dtpa) (correspondiente al estadio R6 para SD y a R4 para LD) en cvs. NS4619 y NS 5019 en la campaña 2016-17 (Fig. 2.2), y a los 51 dtpa (R6 para SD y R5 para LD) en la campaña 2018-19 (Fig. 2.3), un aumento significativo de los valores de SPAD en los LD con respecto a los SD. Por otro lado, también en el cv. NS 5019 (campaña 2016-17) la tasa

de avance de degradación de las clorofilas (calculada como la recta de regresión ajustada entre en inicio de avance de la degradación de las clorofilas y degradación máxima de clorofilas) fue menor bajo LD en comparación de SD (Fig. 2.2).

En ambos experimentos la abscisión de la hoja marcada (*i.e.*, síntoma de la senescencia foliar), se registró (*i.e.*, valor “cero” de SPAD) previamente en las plantas expuestas bajo SD en comparación de las expuestas bajo LD (Fig. 2.2, 2.3). En el experimento 1, la diferencia en la abscisión de la hoja marcada entre tratamientos estuvo en el orden de 18-20 dt para ambos cvs., y en el experimento 2 fue de 12.5 dt (Fig. 2.2, 2.3). En la campaña 2018-19, donde periódicamente se recogieron las láminas foliares abscindidas, se registró que a los 64.6 dtpa las plantas expuestas bajo SD habían abscindido la totalidad del canopeo (*i.e.*, todas las hojas) mientras que en plantas bajo LD la pérdida se observó 17.1 dt más tarde (Fig. suplementaria 2.2).

En el experimento 1 (2016-17) los máximos valores de asimilación neta de dióxido de carbono (A_n) a saturación lumínica se registraron alrededor de los 41 y 34 dtpa en ambos tratamientos en NS4619 y NS5019 respectivamente, que se corresponden con el estadio fenológico R5 para SD y R3-4 para LD (Fig. 2.2). En el experimento 2 (2018-19) los máximos valores se registraron entre los 25-41 dtpa en ambos tratamientos y se corresponden con el estadio fenológico R5-R6 para SD y R3-R5 para LD (Fig. 2.3). El inicio de avance de la disminución de la A_n fue igual entre tratamientos (40.9 y 47.7 dtpa en NS4619 y NS5019 respectivamente) en la campaña 2016-17, en cambio se registró 10.9 dt previo en tratamientos bajo SD en comparación de LD en la campaña 2018-19 (Fig. 2.2, 2.3). En la campaña 2016-17 en ambos cvs. posterior a los 61 dtpa y en la campaña 2018-19 a partir de los 51 dtpa se comenzó a registrar una mayor A_n en las plantas expuestas bajo LD en comparación de las expuestas bajo SD (Fig. 2.2, 2.3). La tasa de avance de disminución de la A_n (calculada como la recta de regresión ajustada entre en inicio de avance de la disminución de A_n y la A_n nula) fue significativamente menor en LD en comparación de SD en la campaña 2016-17, mientras que no fue afectada por los tratamientos fotoperiódicos en la campaña 2018-19 (Fig. 2.2, 2.3). En ambas campañas, la A_n persistió en los tratamientos en LD al momento que la misma era nula en los SD; en la campaña 2016-17 esa prolongación de la duración de la A_n fue de 20.0 y 14.6 dt en NS4619 y NS5019 respectivamente, mientras que en 2018-19 fue de 11.6 dt (Fig. 2.3 y 2.3).

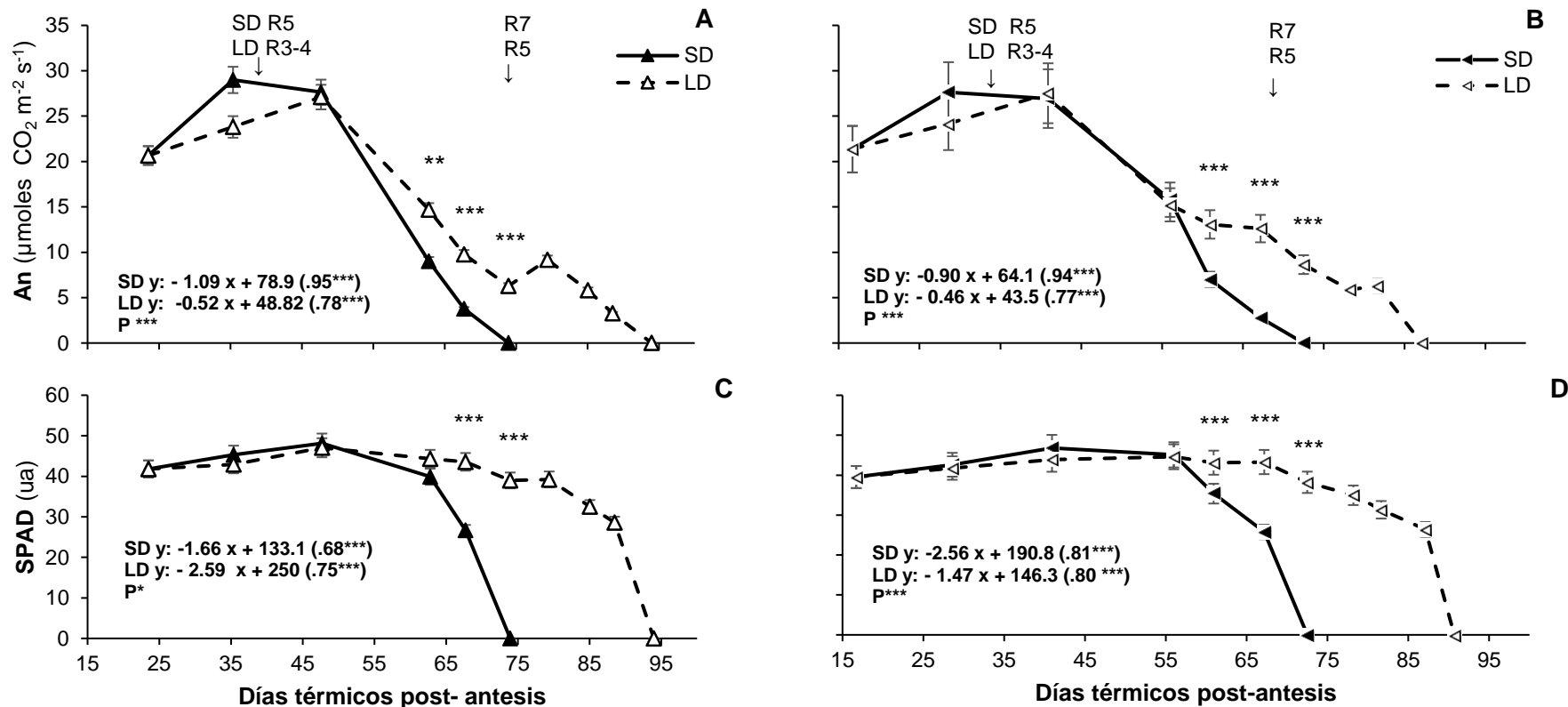


Figura 2.2. Modificación de la asimilación neta de CO₂ a saturación lumínica (An) y contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir del “índice de verdor” SPAD) en plantas soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en la campaña 2016-17. (A) y (C) cv. NS4619, (B) y (D) cv. NS 5019. En la parte superior del gráfico las flechas (↓) indican día térmico de los estadios fenológicos R3-4, R5 y R7 según Fehr & Caviness (1977) en SD y LD. Las ecuaciones representan la tasa de avance de disminución de la An y de avance de degradación de las clorofilas (calculada en inicio de avance de la disminución/degradación estas variables) y la An nula o degradación máxima de clorofilas; entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R²) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a P < 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

En general en ambas campañas y tratamientos fotoperiódicos el inicio de avance de la disminución de la An antecedió en inicio del avance de la degradación de las clorofilas (a excepción del tratamiento SD en NS 4619 en campaña 2016-2017 donde fue a los mismos dtpa). A pesar de esta diferencia, en ambos tratamientos la disminución de la An y de la degradación de las clorofilas (calculadas entre el inicio del avance y la An nula o la degradación máxima de clorofilas) se asociaron significativamente mediante una curva de regresión exponencial (Fig. suplementaria 2.3). El cálculo del coeficiente de determinación (R^2) para esas curvas mostró un ajuste del 0.80 - 0.91 para SD y de 0.84 -0.98 para LD considerando ambas campañas y cultivares (Fig. suplementaria 2.3).

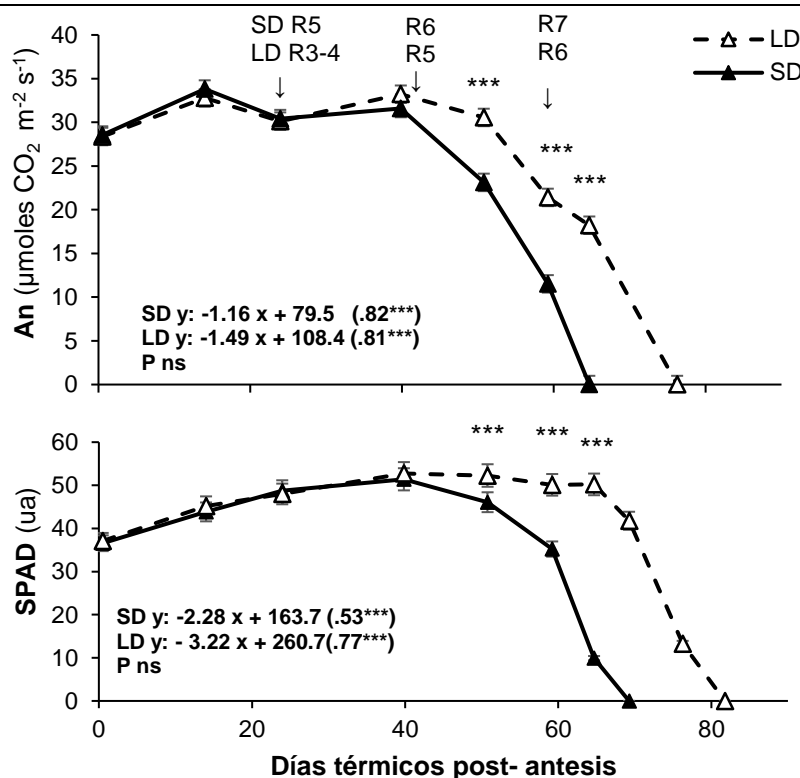


Figura. 2.3. Modificación de la asimilación neta de CO₂ a saturación lumínica (An) y contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir del “índice de verdor” SPAD) en plantas soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en la campaña 2018-19. En la parte superior del gráfico las flechas (↓) indican día térmico de los estadios fenológicos R3-4, R5, R6 y R7 (según Fehr & Caviness 1977) en SD y LD. Las ecuaciones representan la tasa de avance de disminución de la An y de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre el inicio de avance de la disminución/degradación estas variables y la An nula o degradación máxima de clorofilas); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

2.3.3. Desarrollo y crecimiento de órganos vegetativos en días largos post-antesis

El peso del “tallo principal” (incluye tallo y pecíolos) y el peso de las “ramificaciones” (incluye ramificaciones y pecíolos) por área de suelo a madurez de cosecha (R8) fue mayor en plantas expuestas bajo LD en relación a las expuestas bajo SD durante post-antesis (Tabla 2.4). En el experimento 1 (campaña 2016-17) los mayores incrementos ocurrieron en las ramificaciones, *i.e.*, el peso de las ramificaciones se incrementó 190 y 180 %, mientras que el peso del tallo principal aumentó un 100 y 50 % en los tratamientos LD en relación a los SD para NS4619 y NS5019 respectivamente. En cambio, en el experimento 2 (campaña 2018-19), el peso del tallo principal aumentó un 56 %, mientras que el peso de las ramificaciones de incrementó un 23 %, bajo LD con respecto de SD. El número de nudos del tallo principal en ambas campañas, y el número de nudos en las ramificaciones en la campaña 2016-17 (campaña donde se determinó esta variable) aumentó en las plantas expuestas en LD con respecto a las expuestas en SD (Tabla 2.4). También el número de ramificaciones se incrementó en LD en un 170-190 % y en un 20 % en comparación de SD en experimento 1 y 2 respectivamente (Tabla 2.4). En la campaña 2016-17 el aumento bajo LD post-antesis del peso del tallo principal y ramificaciones sólo fue significativa a madurez de cosecha, sin embargo en la campaña 2018-19 el peso del tallo principal y ramificaciones comenzaron a ser significativamente mayores a partir de 25 dtpa (R5 para SD y R3-R4 para LD) (Fig. 2.4). En relación al peso de las láminas foliares, solo se observó un aumento significativo bajo LD post-antesis en la campaña 2018-19 a los 41 dtpa (R6 para SD y R5 para LD) (Fig. 2.4). En ambas campañas, la biomasa vegetativa (incluye peso de tallo, ramificaciones, pecíolos y láminas foliares) a madurez de cosecha fue significativamente mayor bajo LD en relación de SD. En el experimento de la campaña 2018-19, el peso de láminas (362.4 g m^{-2} vs. 284.2 , $P < 0.05$) y pecíolos abscindidos (224.8 vs. 206.1 g m^{-2} , ns) durante todo el período de post- antesis fue mayor en LD en relación de SD. Teniendo en cuenta esta biomasa abscindida, la biomasa vegetativa total fue un 32% mayor bajo LD en relación de SD.

Tabla 2.4. Número de nudos en tallo principal, número de ramificaciones, nudos de ramificaciones y sus respectivos pesos seco a madurez de cosecha (R8) en plantas soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en las campañas 2016-17 y 2018-19.

Campaña	Cultivar	Tratamiento	Tallo principal		Ramificaciones			
			Número de nudos (N° m ⁻²)	Peso (g m ⁻²)	Número de ramificaciones (N° m ⁻²)	Número de nudos (N° m ⁻²)	Peso (g m ⁻²)	Peso individual de ramificación (g ra ⁻¹)
2016-17								
NS4619	SD		568 c	213.4 b	117 b	293 c	35.7 c	0.31 b
	LD		747 a	441.8 a	319 a	1050 ab	105.1 b	0.34 b
NS5019	SD		549 c	2852 ab	113 b	591 bc	105.2 b	0.92 a
	LD		679 b	440.4 a	330 a	1564 a	299.6 a	0.91 a
	T		**	*	**	*	*	ns
	cv.		ns	ns	ns	ns	**	**
	T x cv.		ns	ns	ns	ns	*	ns
2018-19								
NS4619	SD		415 d	160.4 c	150 c	nd	58.4 c	0.39 b
	LD		681 ab	258.1 d	180 d	nd	72.3 d	0.40 b
	T		**	**	***	nd	***	ns
	A		*	*	**	nd	ns	ns
	T x A		ns	*	***	nd	***	ns

La fuente de variación fue el tratamiento (T) y el cultivar (cv.) en la campaña 2016-17, y el tratamiento (T) y la campaña (A) en el 2018-2019. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a P < 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La sigla "ra" corresponde a ramificaciones. Diferentes letras denotan diferencias significativas a P < 0.05 según test de Fisher. nd: no determinado. Los pesos de tallo principal y ramificaciones incluyen el peso de sus respectivos pecíolos.

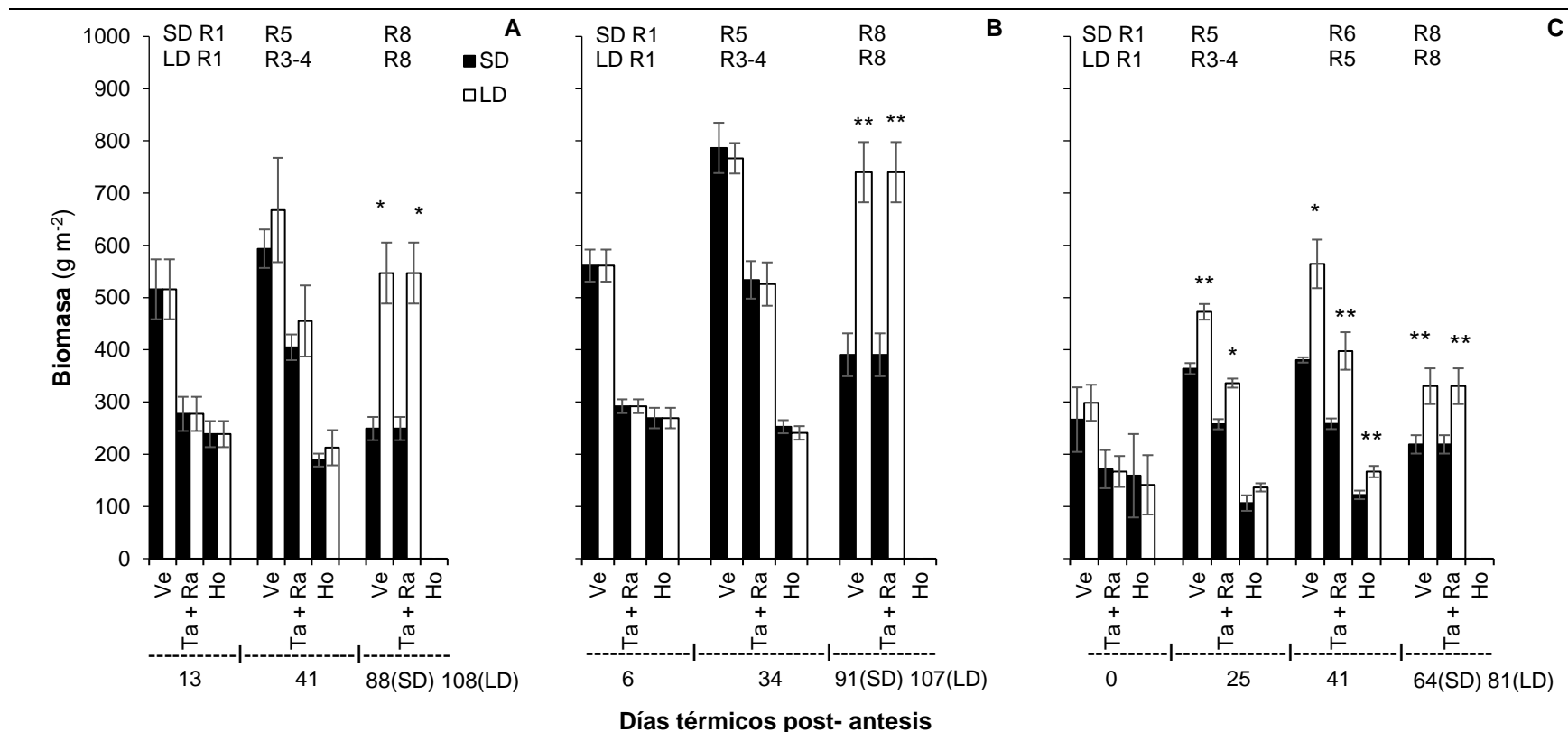


Figura 2.4. Biomasa vegetativa (Ve), del tallo principal (Ta), ramificaciones (Ra) y de las láminas foliares (Ho) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante la post-antesis en la campaña 2016-17 y 2018-19. (A) y (B) NS4619 y NS5019 en campaña 2016-17 respectivamente, y (C) NS4619 en campaña 2018-19. Biomasa vegetativa (Ve) incluye peso del tallo, ramificaciones, pecíolos y lámina foliar; tallo principal (Ta) + ramificaciones (Ra) incluye peso de tallo principal, ramificaciones y pecíolos; lámina foliar (Ho). En la parte superior de cada gráfico R1, R3-R4, R5, R6 y R8 (según Fehr & Caviness 1977) se corresponde con el estadio fenológico de las plantas de cada tratamiento al momento del muestreo. Los muestreos iniciales (0,6,13 días térmicos post-antesis, dtpa) e intermedios (25, 34,41 dtpa) se realizaron a los mismos días térmicos entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado R8 por lo que difieren en los días térmicos en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (t) representa el error estándar de la media.

El índice de área foliar (LAI) no difirió significativamente entre los tratamientos en el experimento de la campaña 2016-17, pero en la campaña 2018-19 el LAI fue significativamente mayor bajo LD en relación de SD (Tabla suplementaria 2.1). Ese incremento en el LAI bajo LD a los 25 y 41 dtpa no se correspondió con un aumento de la abscisión de las láminas foliares, ya que no hubo diferencias previo los 41 dtpa en el porcentaje de láminas caídas entre tratamientos (Tabla Suplementaria 2.1; Figura suplementaria 2.2). Independientemente del LAI, no hubo diferencia significativa en la interceptación de la radiación (mayor siempre al 96 %, *i.e.*, por encima del LAI crítico) entre SD y LD hasta el inicio de llenado de vainas (R5) en ninguno de los experimentos. El área foliar específica (SLA) no difirió entre tratamientos en ninguna de las campañas (Tabla Suplementaria 2.1). La proporción del peso del área foliar en relación a la biomasa total (*i.e.*, LWR) fue un 15% mayor en LD en el experimento de la campaña 2016-17, mientras que en la campaña 2018 - 19 solo fue significativamente mayor (26%) a los 41 dtpf (Tabla suplementaria 2.1).

2.3.4. Desarrollo y crecimiento de vainas y granos en días largos post- antesis

La dinámica en la generación del número de vainas y granos durante la post-antesis previo a madurez de cosecha (R8) varió entre campañas en los tratamientos fotoperiódicos. En la campaña 2016- 17 en ambos cvs. en el muestreo realizado previo a madurez de cosecha, a los mismos dtpa correspondientes a R5 para SD y R3-4 para LD (*i.e.*, producto de la demora en el desarrollo reproductivo), mostraron que el número de vainas y granos por área de suelo fue significativamente menor bajo LD con respecto de SD (Fig. suplementaria 2.4). En la campaña 2018-19 en los muestreos previos a R8, el número de vainas siempre fue mayor significativamente bajo LD con respecto de SD, a pesar de la demora en el desarrollo reproductivo. En cambio, el número de granos fue menor significativamente bajo LD con respecto de SD en el muestreo a los 25 dtpa (al igual que en la campaña 2016-17), mientras que en los muestreos posteriores el número de granos fue mayor significativamente bajo LD post-antesis (Fig. suplementaria 2.4). En ambos experimentos el número de vainas y granos a madurez de cosecha (R8) fue mayor significativamente en plantas expuestas bajo LD con respecto a las expuestas bajo SD en post-antesis (Tabla 2.5). En este muestreo (R8), el número de granos en LD fue un 76 y 31% mayor que en SD en los cvs. NS4619 y NS5019 (2016-17) y un 35 % en el cv. NS4619 (2018-19) respectivamente (Tabla 2.5). El mayor incremento en el número de granos y vainas ocurrió en ramificaciones en la campaña 2016-17 y en el tallo principal en la campaña 2018-19 (Tabla 2.5).

En ambos experimentos la biomasa reproductiva (incluye peso de granos y del pericarpio de las vainas) fue menor previo a madurez de cosecha bajo LD con respecto de SD (Fig. 2.5) reflejando un desarrollo inicial más lento de las vainas y granos en LD. Sin embargo, a madurez de cosecha la biomasa reproductiva fue significativamente mayor bajo LD con respecto de SD, producto del alto número de vainas y granos generados en LD (Tabla 2.5; Fig. 2.5, Suplementaria 2.4). El peso individual de los granos a madurez de cosecha tendió a ser menor en LD en comparación de SD (significativamente menor en 2018-19) (Tabla 2.5). De la relación entre el aumento en el número de granos y la tendencia a una disminución del peso individual de las mismas, surge que el peso de los granos por área del suelo (*i.e.*, rendimiento) fue significativamente mayor bajo LD en comparación de SD en la campaña 2016-17 en ambos cv, y tendió a ser mayor en LD (aunque no significativo) en la campaña 2018-19 (Fig. 2.5).

En ambas campañas, el índice de cosecha (HI) fue significativamente mayor (15-27%) en plantas expuestas bajo SD en relación a las expuestas en LD en post-antesis, indicando que bajo días largos la extensión del fotoperíodo promovió más el crecimiento de la biomasa vegetativa que la acumulación de biomasa reproductiva (Tabla suplementaria 2.2). En la campaña 2018-19, la adición de biomasa abscindida (*i.e.*, conjunto de láminas y pecíolos caídos) a estos cálculos disminuyó el HI en un 47-56 % (dependiendo del tratamiento fotoperiódico) y se amplió un 13% la diferencia entre plantas expuestas bajo SD y LD durante post-antesis (Tabla suplementaria 2.2).

Tabla 2.5. Número y peso de granos y pericarpio de las vainas en tallo principal y ramificaciones, y peso individual de granos a madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en campaña 2016-17 y 2018-19.

Campaña	Tratamiento	Tallo principal				Ramificaciones				Peso individual granos (mg Gn ⁻¹)
		Vainas		Granos		Vainas		Granos		
		Número (Nº m ⁻²)	Peso (g m ⁻²)	Número (Nº m ⁻²)	Peso (g m ⁻²)	Número (Nº m ⁻²)	Peso (g m ⁻²)	Número (Nº m ⁻²)	Peso (g m ⁻²)	
2016-17										
NS4619	SD	864 b	93.67 b	1929 ab	303.5 a	216 c	20.8 c	503 b	75.2 c	155.7 a
	LD	1115 a	133.9 a	2302 ab	322.3 a	909 ab	101.1 a	1963 ab	305.8 ab	150.7 a
NS5019	SD	963 b	114.5 ab	2325 a	354.1 a	507 bc	49.1 bc	1019 ab	153.0 bc	155.8 a
	LD	1087ab	113.3 ab	1850 b	256.0 a	1401 a	159.8 a	2655 a	398.0 a	145.6 a
	T	*	ns	ns	ns	*	*	*	*	ns
	cv.	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
	T x cv.	ns	*	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2018-19										
NS4619	SD	702 b	85.3 b	1845 b	269. 6 a	393 c	27.9 c	762 b	83.1 c	117.1 b
	LD	1438 c	136.8 a	3328 a	302. 9 a	605 ab	38.9 ab	123 ab	80.2 c	71.4 c
	T	***	**	**	ns	*	*	*	ns	*
	A	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
	T x A	**	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

El peso individual de granos considera toda la planta sin división entre tallo principal y ramificaciones. La fuente de variación fue el tratamiento (T) y el cultivar (cv.) en la campaña 2016-17, y el tratamiento (T) y la campaña (A) en el 2018-2019. La sigla "Gn" corresponde a granos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencia estadísticamente significativa a P < 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencias estadísticamente significativas. Diferentes letras denotan diferencias significativas a P < 0.05 según el test de Fisher.

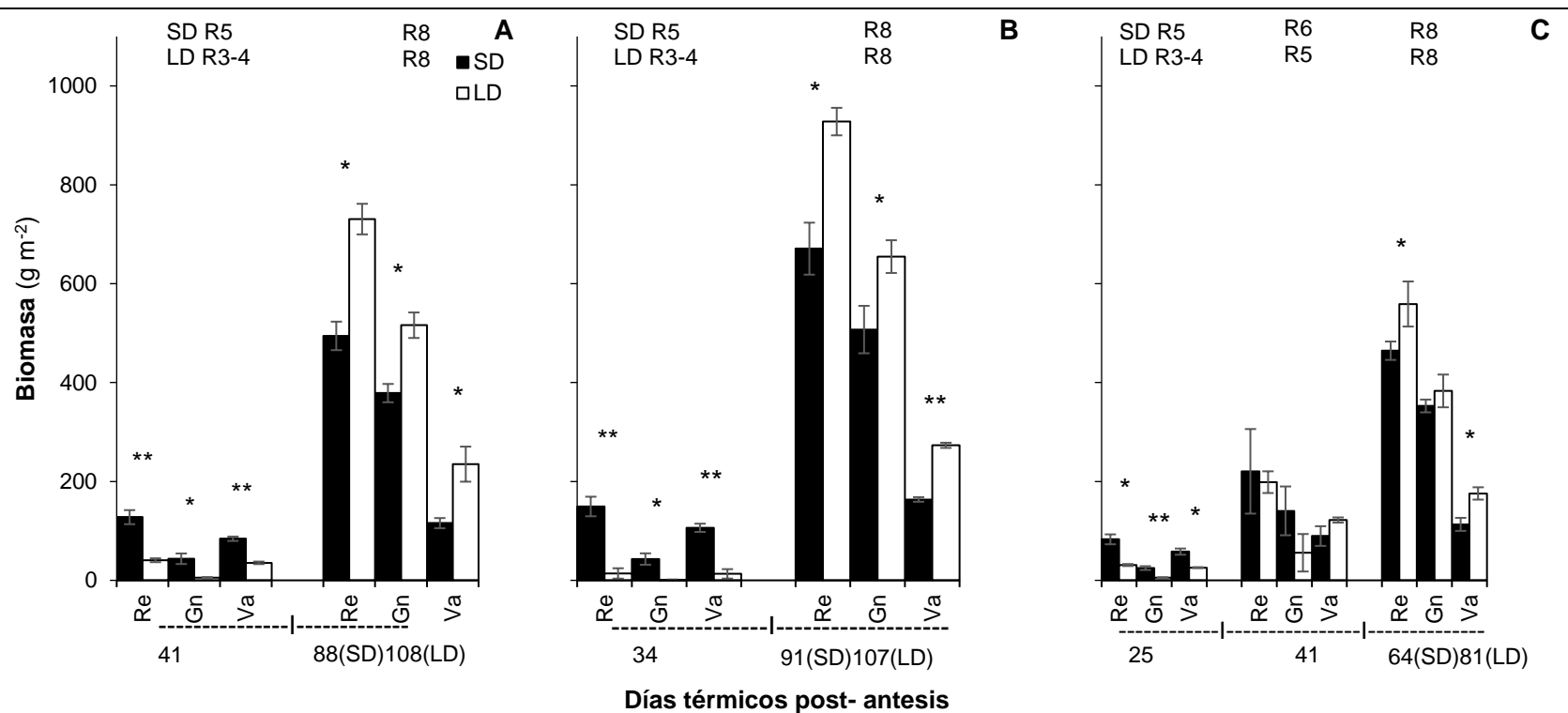


Figura 2.5. Biomasa reproductiva (Re), de granos (Gn) y pericarpio de vainas (Va) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante la post-antesis en las campañas 2016-17 y 2018-19. (A) y (B) NS4619 y NS5019 en la campaña 2016-17 respectivamente, y (C) NS4619 en la campaña 2018-19. Biomasa reproductiva incluye peso de granos y pericarpio de vainas. En la parte superior de cada gráfico R3-R4, R5, R6 y R8 (según Fehr & Caviness 1977) se corresponde con el estadio fenológico de las plantas de cada tratamiento al momento del muestreo. Los muestreos intermedios (25, 34, y 41 días térmicos post-antesis, dtpa) se realizaron a los mismos días térmicos entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado R8 por lo que difieren en los días térmicos en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

2.3.5. Análisis de crecimiento en días largos post- antesis

La biomasa total (*i.e.*, conjunto de biomasa vegetativa y reproductiva) a madurez de cosecha (R8) fue significativamente mayor en las plantas expuestas bajo LD en post-antesis en comparación de aquellas expuestas bajo SD (Fig. suplementaria 2.5). Esto podría ser producto simplemente de la persistencia de la asimilación de carbono asociada a la mayor duración del periodo de post- antesis y/o a un aumento en la tasa de acumulación de carbono durante la etapa de post- antesis. De hecho, en ambos experimentos tanto una mayor cantidad de días asimilación carbono, como un aumento de la tasa promedio de crecimiento del cultivo (CGR) y de crecimiento relativo (RGR) durante todo el período reproductivo fue registrado en las plantas expuestas bajo LD en relación a las expuestas bajo SD (Tabla 2.6). Los incrementos en las tasas de acumulación de carbono sucedieron en diferentes períodos de la post- antesis entre las campañas. En la campaña 2016-17 en ambos cvs. la CGR y RGR fue significativamente menor (20- 70 %) bajo LD en relación de SD en el primer período considerado (*i.e.*, 13 - 41 dtpa y 6-34 dtpa en NS4619 y NS5019 respectivamente) (Tabla 2.7). En cambio, en el segundo período considerado (*i.e.*, hasta madurez de cosecha), la CGR y RGR decrecieron en los tratamientos de SD y aumentaron en los tratamientos de LD en comparación con el primer período. Este aumento de las tasas bajo LD en el segundo período tuvo un incremento significativo del orden de 400 - 1600 % en relación de SD (Tablas 2.7). En la campaña 2018-19, durante los dos primeros períodos (*i.e.*, 0 - 25 y 25 - 41 dtpa), las plantas expuestas bajo LD tuvieron un incremento significativo de CGR y RGR en relación de SD (aumento RGR periodo 0 - 25 ns); esos aumentos en LD fueron del 30-40 y 90-100% en relación de SD en el primer y segundo periodos respectivamente (Tabla 2.7). En forma opuesta en el último período (*i.e.*, 41 dtpa - madurez de cosecha) las tasas de crecimiento fueron mayores significativamente (50 - 100%) en el tratamiento SD en relación de LD (Tabla 2.7).

El coeficiente de asimilación neta (CAN), un estimador de la ganancia de carbono en relación a la fotosíntesis del canopeo integrada en un periodo de tiempo, tuvo iguales tendencias entre los tratamientos que las CGR y RGR, *i.e.*, en los períodos que aumentaron estas tasas de crecimiento CAN acompañó este incremento. Por lo tanto, en la campaña 2016-17, el CAN aumentó bajo SD en relación de LD durante el primer período; mientras que en la campaña 2018-19, el CAN se incrementó en el tratamiento bajo LD en relación de SD en los primeros períodos.

Tabla 2.6. Tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de crecimiento de cultivo (CGR) durante todo el periodo reproductivo (R1-R8) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en las campañas 2016-17 y 2018-19.

campaña		RGR	CGR
Cultivar	Tratamiento	(g g ⁻¹ dt ⁻¹)	(g m ⁻² dt ⁻¹)
2016-17		Período 13 dtpa - MC	
NS4619	SD	0.006 c	3,5 c
	LD	0.011 ab	9.3 ab
2018-19		Período 0 dtpa - MC	
NS5019	SD	0.008 bc	6.8 bc
	LD	0.012 a	12.9 a
	T	*	*
	cv.	ns	*
	T x cv.	ns	ns
2018-19		Período 0 dtpa - MC	
NS4619	SD	0.015 ab	7.3 bc
	LD	0.017 a	9.7 a
	SD +hp	0.024 a	15.8 b
	LD +hp	0.027 a	19.6 a
	T	***	***
	A	ns	ns
	T x A	***	ns
	T+ hp	ns	*

Los 0, 6, 13 días térmicos post-antesis (dtpa) y madurez de cosecha (MC) corresponden a R1 y R8 (según Fehr & Caviness 1977) respectivamente en ambos años y tratamientos. SD+hp y LD+hp incluye biomasa abscindida en la campaña 2018-19. La fuente de variación fue el tratamiento (T) y el cultivar (cv.) en la campaña 2016-17, y el tratamiento (T) y la campaña (A) en el 2018-2019. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher.

El cálculo de los índices de crecimiento en estadios tardíos de la post- antesis en soja es complejo debido a la abscisión de las láminas foliares y pecíolos, por lo que el valor real del crecimiento del cultivo podría estar subestimado. Por lo tanto, en la campaña 2018-19 donde la biomasa abscindida fue recolectada, también se calcularon los índices de crecimiento agregando los órganos caídos durante la post-antesis. Las tendencias generales y las diferencias entre tratamientos no cambiaron en relación al cálculo de los índices sin considerar los órganos abscindidos; sin embargo, los índices de crecimiento aumentaron en todos los periodos considerados (Tabla 2.6). Específicamente en el último período (*i.e.*, 41 dtpa - madurez de cosecha), que coincide con la mayor abscisión de pecíolos y laminas foliares, se registraron los mayores aumentos de CGR y RGR en ambos tratamientos (entre 400 - 590 % en comparación de mismos índices sin considerar biomasa abscindida) (Tabla 2.7). Por último,

Capítulo II

considerando todo el período de post-antesis, la CGR y RGR teniendo en cuenta los órganos abscindidos aumenta entre 60-120 % en relación a las mismas tasas calculadas sin tener en cuenta la biomasa abscindida (Tabla 2.6).

Tabla 2.7. Tasa de crecimiento relativo (RGR), coeficiente de asimilación neta (CAN) y tasa de crecimiento de cultivo (CGR) durante diferentes períodos del desarrollo reproductivo en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en campaña 2016-17 y 2018-19.

Campaña	Tratamiento	RGR (g g ⁻¹ dt ⁻¹)	CAN (g m ⁻² dt ⁻¹)	CGR (g m ⁻² dt ⁻¹)	RGR (g g ⁻¹ dt ⁻¹)	CAN (g m ⁻² dt ⁻¹)	CGR (g m ⁻² dt ⁻¹)	RGR (g g ⁻¹ dt ⁻¹)	CGR (g m ⁻² dt ⁻¹)
2016-17		Período 13 – 41 dtpa						Período 41 dtpa - MC	
NS4619	SD	0.011 b	1.1 ab	7.0 b				0.001 b	0.7 c
	LD	0.009 b	0.8 b	5.2 c				0.012 a	11.4 b
NS5019		Período 6 – 34 dtpa						Período 34 dtpa – MC	
	SD	0.019 a	1.6 a	13.6 a				0.003 b	2.8 c
	LD	0.012 b	1.0 b	8.0 b				0.014 a	15.8 a
	T	*	*	*				**	**
	cv.	ns	ns	*				ns	*
	T x cv.	ns	ns	ns				ns	ns
2018-19		Período 0 -25 dtpa			Período 25 – 41 dtpa			Período 41 dtpa - MC	
NS4619	SD	0.016 b	1.3 ab	6.8 b	0.014 b	1.7 b	8.2 b	0.01 a	6.9 ab
	LD	0.023 a	1.8 a	9.2 a	0.027 a	3.0 a	17.8 a	0.005 b	4.7 ab
	SD +hp	0.024 b	2.1 b	11 b	0.017 b	2.2 b	10.1b	0.055 a	48.2 a
	LD +hp	0.031 a	2.7 a	13.7 a	0.029 a	3.4 a	20.0 a	0.025 b	28.4 b
	T	ns	ns	*	*	*	*	**	
	A	*	*	*				ns	ns
	T x A	*	*	*				**	**
	T+ hp	*	*	*	*	*	*	*	*

0, 6 y 13 días térmicos post-antesis (dtpa) corresponden a R1 (según *Fehr & Caviness 1977*); 34 y 41 dtpa en campaña 2016-17, y 25 dtpa en 2018-19 corresponden a R5 en SD y R3-R4 en LD. 41 dtpa en 2018-19 corresponde a R6 en SD y R5 en LD; MC corresponde a R8 en ambos años y tratamientos. SD+hp y LD+hp incluye biomasa abscindida en la campaña 2018-19. La fuente de variación fue el tratamiento (T) y el cultivar (cv.) en la campaña 2016-17, y el tratamiento (T) y la campaña (A) en el 2018-2019. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher.

2.3.6. Acumulación y fijación biológica de N₂ en días largos post-antesis

En ambos experimentos el contenido de nitrógeno (N) acumulado en la biomasa vegetativa y total (en este caso conjunto de biomasa vegetativa y de granos) a madurez de cosecha (R8) fue significativamente mayor en plantas expuestas bajo LD en post-antesis que aquellas expuestas bajo SD (Tabla 2.8; Fig. 2.6). En el experimento de la campaña 2016 -17 además se registró un aumento del contenido de N en los granos en los LD en comparación de los SD, mientras que en la campaña 2018-19 no se observaron efectos de los tratamientos fotoperiódicos (Tabla 2.8; Fig. 2.6). A excepción de una menor concentración de N en los granos en la campaña 2018 - 19, la concentración de este elemento en la biomasa vegetativa y en los granos no estuvo afectada por los tratamientos fotoperiódicos (Tabla 2.8). En la campaña 2018 - 19 se determinó el N contenido en láminas foliares y pecíolos abscindidos. El contenido de este elemento en las láminas foliares abscindidas también fue significativamente mayor bajo LD en comparación de SD (Tabla 2.9), lo que implica que las diferencias en el contenido de N de la biomasa vegetativa entre los tratamientos fotoperiódicos fueron mayores que las estimadas a partir del análisis de la biomasa sin tener en cuenta los órganos abscindidos a madurez de cosecha. El índice de cosecha de nitrógeno (NHI) tanto considerando como no considerando la biomasa abscindida no tuvo diferencia entre los tratamientos (Tabla 2.8).

En la campaña 2018-19 se determinó la fuente de nitrógeno, *i.e.*, nitrógeno mineral (*v.g.*, NO₃, NH₄) tomado del suelo contra el nitrógeno atmosférico (N₂) fijado por rizobios simbióticos. En ambos tratamientos en el estadio R1 (*i.e.*, inicio de los tratamientos fotoperiódicos), la mayoría del N provenía de la absorción de nitrógeno mineral (Tabla suplementaria 2.3). Posteriormente (*i.e.*, 41 dtpa y madurez de cosecha) el nitrógeno proveniente de la fijación biológica aumentó significativamente y alrededor del 50 % del N provino de esta fuente, con una proporción ligeramente menor (no significativa) en las plantas expuestas bajo LD en post-antesis (Tabla suplementaria 2.3). Por lo tanto, el aumento de N en la biomasa en la madurez de cosecha (R8) bajo LD fue sostenido en partes iguales tanto por la absorción de nitrógeno del suelo como por la fijación biológica de N₂.

Tabla 2.8. Contenido y concentración (%) de nitrógeno en biomasa vegetativa, en granos, e índice de cosecha de nitrógeno (NHI) a madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en las campañas 2016-17 y 2018-19.

Campaña	Cultivar	Tratamiento	Biomasa vegetativa		Grano		NHI
			N (%)	Contenido de N (g m ⁻²)	N (%)	Contenido de N (g m ⁻²)	
2016-17							
	NS4619	SD	1.10 a	2.97 c	6.34 a	23.32 c	0.88 a
		LD	0.87 a	4.97 b	5.34 a	27.92 b	0.85 a
	NS5019	SD	1.05 a	4.05 b	6.13 a	29.33 a	0.88 a
		LD	0.93 a	7.25 a	5.86 a	40.06 b	0.85 a
	T		ns	*	ns	*	ns
	cv.		ns	ns	ns	**	ns
	T x cv.		ns	ns	ns	ns	ns
2018-19							
	NS4619	SD	1.19 a	2.58 c	6.23 a	21.40 a	0.89 a
		LD	1.34 a	4.36 b	5.82 ab	22.61 a	0.86 a
		SD +hp					0.71 a
		LD +hp					0.62 a
	T		ns	*	*	ns	ns
	A		ns	ns	ns	ns	ns
	T x A		ns	ns	ns	ns	ns
	T +hp						ns

La biomasa vegetativa incluye tallos, ramificaciones y sus respectivos pecíolos. SD+hp y LD+hp incluye biomasa abscindida en la campaña 2018 - 19. La fuente de variación fue el tratamiento (T) y el cultivar (cv.) en la campaña 2016 - 17, y el tratamiento (T) y la campaña (A) en el 2018-2019. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher.

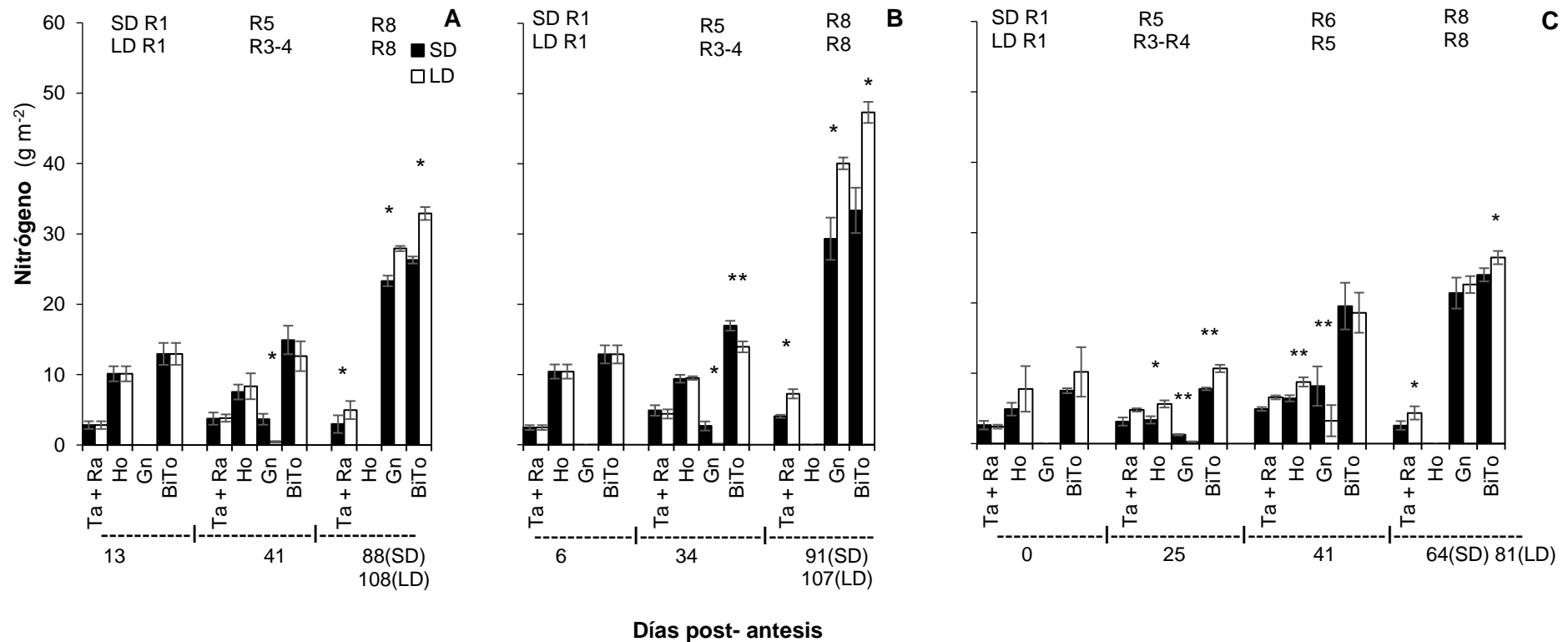


Figura 2.6. Contenido de Nitrógeno en tallo (Ta), ramificaciones (Ra), láminas foliares (Ho), granos (Gn) y biomasa total (BiTo) en plantas de soja cvs. NS4619 y NS5019 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante la post-antesis en las campañas 2016-17 y 2018-19. (A) y (B) NS4619 y NS5019 en la campaña 2016-17 respectivamente, y (C) NS4619 en la campaña 2018-19. Ta + Ra incluye biomasa de tallo principal, ramificaciones y sus correspondientes pecíolos; Ho corresponde a biomasa de láminas, Gn a biomasa de granos; BiTo corresponde incluye Ta+ Ra, Ho y Gn. En la parte superior de cada gráfico R1, R3-R4, R5, R6 y R8 (según Fehr & Caviness 1977) se corresponde con el estadio fenológico de las plantas de cada tratamiento al momento del muestreo. Los muestreos iniciales (0,6,13 días térmicos post-antesis, dtpa) e intermedios (25, 34,41 dtpa) se realizaron a los mismos días térmicos entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado R8 por lo que difieren en los días térmicos en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla 2.9. Contenido y concentración (%) de nitrógeno en láminas foliares abscindidas, pecíolos abscindidos, biomasa total abscindida durante todo el desarrollo reproductivo (R1-R8) en plantas de soja cv. NS4619 expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) en post-antesis en campaña 2018-19.

Campaña Cultivar	Tratamiento	Pecíolos		Láminas		Biomasa total abscindida	
		N (%)	Contenido de N (g m ⁻²)	N (%)	Contenido de N (g m ⁻²)	N (%)	Contenido de N (g m ⁻²)
2018-19							
NS4619	SD	1.12	2.28	2.23	6.75	1.68	9.03
	LD	1.29	2.41	2.71	11.34	2.00	13.74
		ns	ns	ns	*	ns	*

Biomasa total abscindida incluye pecíolos y laminas foliares abscindidos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

2.4. DISCUSIÓN

2.4.1. Demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos, y de la senescencia foliar en día largo post-antesis

La exposición de soja bajo LD en post- antesis generó una demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos lo que eventualmente prolongó la duración del período de post-antesis, lo cual es consistente con reportes previos (Thomas & Raper 1976; Guimet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Asamadu *et al.* 1998; Summerfield *et al.* 1998; Han *et al.* 2006; Kantolic & Slafer, 2001; 2005; 2007; Nico *et al.* 2015, 2016). Consecuentemente con la demora del desarrollo reproductivo (de vainas y granos) y la prolongación de la post-antesis existió un retraso de la senescencia foliar en plantas expuestas bajo LD. Uno de los síntomas indicadores de la demora de la senescencia foliar fue el retardo en la degradación de las clorofilas foliares en las plantas de soja expuestas bajo LD en post-antesis. En las plantas de soja bajo SD post-antesis, se comenzó a evidenciar el inicio del avance de la degradación de las clorofilas a los 47-56 dtpa cuando las mismas se encontraban en R6 (*i.e.*, llenado medio del grano). En ese mismo momento, las plantas bajo LD (que se encontraban en R4 y R5), no mostraban cambios notorios en la degradación de las clorofilas; recién a los 64-79 dtpa y alcanzado el estadio fenológico R5-6 o R6, bajo LD post-antesis se comenzó a evidenciar el inicio del avance de la degradación de las clorofilas. Además del inicio más tardío en la degradación de las clorofilas bajo LD, en este tratamiento la degradación

Capítulo II

máxima de clorofilas (*i.e.*, SPAD valor “cero”) fue posterior que en las plantas expuestas bajo SD (Fig. 2.2, 2.3). En definitiva, estas observaciones sugieren que la exposición de soja bajo LD en post-antesis demora la senescencia de las hojas asociado al retraso del desarrollo reproductivo de las vainas y granos. Sin embargo, Han *et al.* (2006), han registrado una demora en el “*amarillamiento*” del canopeo en plantas expuestas bajo LD en post-antesis donde las vainas fueron removidas, por lo cual no se puede descartar un efecto adicional sobre la senescencia foliar de los LD independiente del desarrollo reproductivo (ver Capítulo V donde se explora esta hipótesis).

Junto a la degradación más lenta de las clorofilas foliares, se registró que en las plantas expuestas bajo LD persistió durante más tiempo la asimilación de dióxido de carbono (An) (*i.e.*, otro síntoma característico de la demora de la senescencia foliar; Wittenbach 1983; Crafts-Brandner & Egli 1987a, b; Guamet *et al.* 1990) que en las plantas expuestas bajo SD en post-antesis (Fig. 2.2, 2.3). Esa prolongación en la An durante la post-antesis en LD, respondió en la campaña 2016 - 17 a una tasa más lenta de la disminución de la An y en la campaña 2018 - 19 a un inicio más tardío del avance de la disminución de la An. En consecuencia, del inicio tardío o la tasa más lenta de disminución de An, la asimilación nula se registró primero en las plantas expuestas bajo SD en relación a las expuestas bajo LD en post-antesis. El sostenimiento de la An junto con la menor degradación de las clorofilas foliares bajo LD post-antesis, sugieren que la demora de la senescencia de las hojas es del tipo funcional (*i.e.*, “no cosmético”) (Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Hörtensteiner 2009). Por último, si el efecto del LD post-antesis fuera mediado completamente por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos, la disminución de la An sería asincrónica en relación a los días térmicos post-antesis, pero sincrónica comparando el mismo estadio fenológico. En las plantas expuestas bajo SD, el inicio del avance de la disminución de la An comenzó durante R5, en cambio el inicio del mismo se registró previo a R5 bajo LD (inicio y final de R4 en campaña 2016 - 17 y 2018 - 19 respectivamente). Esta asincronía en el estadio fenológico entre ambos tratamientos (*i.e.*, R5 en SD y R4 en LD) para el inicio del avance de la disminución de la An podría sugerir un efecto del fotoperíodo sobre la senescencia foliar no mediado por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos (*i.e.*, efecto directo), en forma similar a la demora del “*amarillamiento*” del canopeo reportado por Han *et al.* (2006). Esta posible participación directa del fotoperíodo sobre la senescencia se profundiza en el capítulo V de esta tesis.

2.4.2. Aumento en la producción de biomasa e incremento en las tasas de acumulación de carbono en día largo post- antesis

La exposición bajo LD posteriores a antesis aumentó la producción de biomasa a madurez de cosecha (R8) en relación a la exposición bajo SD. La mayor producción de biomasa bajo LD se podría explicar exclusivamente por una tasa de acumulación de carbono similar entre tratamientos, pero con un período más extenso de acumulación de biomasa producto de la demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos (*i.e.*, un efecto indirecto del fotoperíodo sobre la producción de biomasa). Alternativa o complementariamente, la mayor producción de biomasa también podría ser explicada independiente (al menos parcialmente) de la demora del desarrollo reproductivo (y una mayor extensión del período de acumulación) por un aumento en la tasa de acumulación diaria de carbono (*i.e.*, efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de biomasa). En ambas campañas, la CRG y la RGR, que pueden utilizarse como estimadores de la acumulación del carbono diario, integrado en un período de tiempo a partir del cambio del peso (*ca.* 45 % de los tejidos vegetales es C, Bloom & Smith 2015), fue mayor durante toda la post-antesis (R1-R8) en plantas expuestas bajo LD en relación de SD. Por lo tanto, el aumento en la producción de biomasa bajo LD post-antesis podría asociarse a la demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos y la prolongación en la duración de la acumulación de carbono (efecto indirecto del fotoperíodo), y también al incremento diario de la producción de biomasa (efecto directo del fotoperíodo).

El incremento bajo LD post-antesis de las RGR y CGR, podría interpretarse al menos en parte, por un aumento del área de asimilación (IAF) y/o de un aumento de la asimilación integrada en el tiempo por parte del área foliar (reflejado por el CAN) (Koller *et al.* 1970; Radford 1978; Wilson 1981; Beadle 1985). En el primer año de campaña no existió diferencia en el IAF entre tratamientos y en el segundo año aumentó bajo LD con respecto de SD. A pesar de este aumento en LD en el segundo año, no existió un incremento de la intercepción de la radiación entre tratamientos; la intercepción bajo SD fue del 96 % (intercepción crítica: 95 % en soja, Well 1991; Board *et al.* 1997) hasta el inicio del llenado de grano (R5), y no aumentó más allá de ese valor en respuesta al aumento del IAF en LD. En cambio, en general el CAN tuvo la misma tendencia que las tasas de crecimiento (RGR y CGR). En la campaña 2016-17 durante los primeros estadios reproductivos la ganancia de carbono fue menor bajo LD con respecto de SD, y esto coincide con una disminución del CAN en este período. En la campaña 2018-2019, durante los primeros estadios reproductivos la ganancia de carbono fue mayor bajo LD con respecto de SD, y nuevamente esto coincide con un incremento en CAN.

Todo lo considerado anteriormente sugiere que el mecanismo subyacente por el que los LD post-antesis incrementan el CRG y RGR, estaría más vinculado a un aumento de la asimilación integrada en el tiempo (CAN), que a una modificación en el área de asimilación (IAF).

En la soja después de la antesis los procesos de asimilación de carbono disminuyen, el crecimiento vegetativo se detiene y la mayoría de los recursos se canalizan hacia el crecimiento de las vainas y granos (Leopold *et al.* 1959; Lindoo & Nodden 1976; Sinclair & de Wit 1976; Crafts-Brandner & Egli 1987a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Noodén *et al.* 2004). Los cambios anteriores pueden interpretarse durante la post- antesis como una competencia por fotoasimilados (carbono), entre el crecimiento vegetativo y el reproductivo (Leopold *et al.* 1959; Lindoo & Nodden 1976; Crafts-Brandner *et al.* 1984c; Miceli *et al.* 1995), por lo que el desarrollo más lento de las vainas y granos bajo LD simplemente postergaría esta competencia por el carbono. Efectivamente, observando toda la post- antesis (R1-R8) bajo LD se generó más biomasa vegetativa que bajo SD; sin embargo, en los primeros estadios de la etapa la post- antesis, donde en LD se evidencia más la demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos, no siempre existió un incremento de la biomasa vegetativa. En la campaña 2016 - 17, donde hubo una acentuada disminución en la biomasa reproductiva bajo LD, esto no fue acompañado con un incremento de biomasa vegetativa en relación de SD. En la campaña 2018 - 19 el aumento de la biomasa vegetativa bajo LD durante los primeros estadios reproductivos de vainas y granos fue acompañado inicialmente con la disminución de la biomasa reproductiva, pero posteriormente se siguió incrementando la biomasa vegetativa (previo a madurez de cosecha) sin afectar el incremento de la biomasa reproductiva al compararlo con SD (Fig. 2.4, 2.5). En este sentido, reportes previos muestran que la ausencia de vainas (por desfrutado), y la exposición bajo LD, aumentaron la biomasa vegetativa (Caffaro & Nakayama 1988). Por otro lado, si el retraso en el crecimiento de vainas y granos fuera simplemente el resultado de la competencia entre el crecimiento vegetativo y el reproductivo, entonces la ganancia de carbono diaria (estimada por CRG y RGR como se explicó previamente) en las primeras etapas reproductivas deberían permanecer relativamente constantes; es decir, la ganancia de carbono sería similar, aunque distribuida (*i.e.*, particionada) de manera diferente entre los crecimientos vegetativos y reproductivos. Sin embargo, la ganancia de carbono diario estuvo afectada en plantas bajo LD en los primeros estadios reproductivos (CGR y RGR disminuyó y se incrementó en campaña 2016-17 y 2018-19 respectivamente en relación de SD) (Tabla 2.7). En definitiva, a partir de estos resultados, los efectos de los LD post-antesis sobre la generación y partición de carbono no serían explicados por una mera demora en la competencia entre la biomasa

vegetativa y reproductiva (producto del retraso en el desarrollo reproductivo de las vainas y granos), sino que también podría estar involucrado un efecto del LD que no tiene vinculación con la demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos (ver Capítulo V donde se profundizará esta hipótesis).

2.4.3. Aumento en la asimilación de N en día largo post- floración

En soja en ambas campañas la exposición bajo LD durante la post- antesis aumentó el contenido de (N) en relación a las plantas expuestas bajo SD. Solo en condiciones semicontroladas y en períodos específicos de la post- antesis se ha determinado el contenido de N bajo LD. En estos estudios durante el período R1- R6 (Guamet *et al.* 1986) y en R5- R7 (Cure *et al.* 1982), aumentó el contenido de N en las plantas expuestas bajo LD producto de una prolongación en la asimilación de N. Por lo tanto, el registro del aumento del contenido de N en condiciones de campo y con la extensión del fotoperíodo durante toda la post- antesis, resultan una novedad. Por otro lado, en LD post- antesis, se había reportado una disminución en la concentración de N tanto en la biomasa vegetativa y reproductiva hasta R6 (Guamet *et al.* 1986). Contrariamente, en otro estudio se observó un aumento en la concentración de N en biomasa vegetativa (durante el llenado de granos) y se encontró la misma concentración o una disminución en los granos dependiendo del cultivar (Cure *et al.* 1982). En general en ambas campañas, la concentración de N en la biomasa vegetativa y de granos no fue afectada por el fotoperíodo, lo que sugiere la mayor acumulación de N en LD post- antesis aumentó en la misma medida que se incrementó la acumulación de biomasa (*i.e.*, no hubo efecto de “dilución”).

En soja se determinó que el 36-68 % del contenido de N en la planta a madurez a nivel mundial (Salvagiotti *et al.* 2008) y el 45- 58 % en Argentina (Di Ciocco *et al.* 2008) proviene de la fijación biológica de N (FBN). En la campaña 2018-19 donde se determinó la FBN, el 49-53% del N acumulado durante la post- antesis procedió de la fijación biológica de nitrógeno (FBN), y este valor porcentual no fue afectado por el fotoperíodo. En plantas de soja creciendo en un sistema hidropónico sin N mineral, los LD hasta el llenado medio de grano (R6) aumentaron la FBN y consecuentemente el contenido de N en las plantas (Guamet *et al.* 1986). Por lo tanto, los aumentos bajo LD del contenido de N en las plantas, podrían estar sostenidos tanto por la absorción de N y/o por la FBN dependiendo de la fuente de N disponible.

2.5. CONCLUSIONES

En relación a los objetivos planteados en este capítulo y los resultados encontrados, en soja los LD post-antesis demoraron el desarrollo reproductivo de las vainas y granos, y consecuentemente incrementaron la duración de esta etapa. Conjuntamente con la prolongación de la etapa de post-antesis, la degradación más lenta de las clorofilas foliares y la persistencia en la asimilación de dióxido de carbono (An), indicaron una demora del tipo funcional de la senescencia de las hojas en los LD post-antesis. En LD post-antesis también aumentó la biomasa, y esto fue producto tanto de una prolongación en el tiempo de asimilación de carbono (efecto indirecto del fotoperíodo), como de un incremento de la tasa de asimilación diaria de carbono (efecto directo del fotoperíodo). Junto al incremento de la biomasa, bajo LD post-antesis aumentó el contenido de N sin cambios en su concentración, sostenido tanto por la fijación biológica de N como por la absorción mineral de N.

MODULACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE CLOROFILAS, MANTENIMIENTO DE LA ASIMILACIÓN NETA DE DIÓXIDO DE CARBONO Y AUMENTO DE BIOMASA EN QUÍNOA Y AMARANTO (AMARANTHACEAE) BAJO FOTOPERÍODOS LARGOS EN POST-ANTESIS

3.1. INTRODUCCIÓN

Las *Amaranthaceae* Juss. “quínoa” (*Chenopodium quinoa* Willd.) y “amaranto” (*Amaranthus cruentus* L.) son dos pseudocereales que en los últimos años están adquiriendo mayor relevancia como cultivos. Por un lado, se ha producido una expansión del cultivo de quínoa, pasando de ser producida en 8-11 países en 1980 a 76 países en 2018 (Bazile *et al.* 2016; Alandia *et al.* 2020), lo que incrementó su producción a nivel mundial en el período 2011-2021 en 62.800 toneladas anuales (FAOSTAT 2020). Este aumento en el área cultivada es posibilitado por la capacidad de adaptación de la quínoa a diferentes condiciones ambientales (Jacobsen *et al.* 1994; Bertero *et al.* 2004; Ruiz *et al.* 2016). Por otro lado, el cultivo de amaranto se está realizando actualmente en zonas marginales (donde otras especies no tienen buenos rendimientos), debido a su tolerancia a suelos salinos y con baja disponibilidad hídrica (Valenzuela-Soto & Muños-Clares 1994; Wang *et al.* 1999; Lavini *et al.* 2016; Aderibigbe *et al.* 2020; Pulvento *et al.* 2021). El incremento en la producción de estos pseudocereales también está siendo impulsado por sus propiedades nutracéuticas/nutricionales, en particular por tener granos¹ de alto contenido de proteínas, especialmente ricos en aminoácidos esenciales para la dieta humana, y también porque posibilitan la producción de harinas libres de gluten (Galwey 1992; Gorinstein *et al.* 2002; Schoenlechner *et al.* 2010; Mir *et al.* 2018; Joshi *et al.* 2018).

Ante la expansión de estos cultivos, las plantas de quínoa y amaranto se exponen a nuevas latitudes con diferentes condiciones de irradiancias, temperatura y fotoperíodo (Risi & Galwey 1991a, b; Bertero *et al.* 1999a, 2004; Mattson & Erwin 2005; Gonzales *et al.* 2009; Steffensen *et al.* 2011; Kandel *et al.* 2021). En particular el fotoperíodo es uno de los principales factores ambientales que modula uno de los procesos del desarrollo más notorios, como es la inducción floral (Koller *et al.* 1977a; Angus *et al.* 1982; Bertero *et al.* 1999a, b; Christiansen *et al.* 2010). Ambas especies están descritas como especies de “día corto” en relación a la floración, lo cual significa que superado un determinado fotoperíodo crítico la duración del tiempo a floración aumenta (respuesta cuantitativa) o bien la floración no sucede (respuesta cualitativa) (Fuller 1949; Koller *et al.* 1977a; Thomas & Vince-Prue 1997b; Bertero *et al.* 1999a, b).

¹ En estas tesis en quínoa y amaranto se denomina “grano” a la fusión entre la semilla y el pericarpio del fruto.

Dado que quínoa y amaranto son especies de “día corto” para la floración, la exposición bajo días largos (LD) (*i.e.*, fotoperíodo que no inducen la floración o bien la demoran) impuesto desde la germinación o primeros estadios vegetativos, consecuentemente demora los días a floración (Fuller 1949; Koller *et al.* 1977a, b; Henderson *et al.* 1998; Bertero *et al.* 1999a; Gélinas & Seguin 2008; Christiansen *et al.* 2010). También se ha reportado que los LD previos a floración producen otros efectos a nivel de la biomasa vegetativa tales como un aumento en el número de nudos y hojas (Koller *et al.* 1977a, b; Bertero *et al.* 1999a, 2000 ; Christiansen *et al.* 2010; Ribeiro *et al.* 2017), e incremento en largo de ramificaciones y de la altura de las plantas (Koller *et al.* 1977b; Angus *et al.* 1982; Whitehear *et al.* 2002; Wang *et al.* 2006; Christiansen *et al.* 2010; Ribeiro *et al.* 2017); a nivel de la biomasa reproductiva los LD previos a floración enlentecen el desarrollo y llenado de granos (*i.e.*, conjunto de semillas y pericarpio fusionado) (Christiansen *et al.* 2010; Bendevis *et al.* 2014a), y en esta condición fotoperiódica también se incrementa la tasa de crecimiento relativo y la biomasa aérea (Fuller 1949; Angus *et al.* 1982; Mattson & Erwin 2005). Además de los efectos previos a floración, en una minoría de trabajos y en forma fragmentaria, también se han reportado efectos de los LD aplicados durante la floración y en la antesis de las flores (Koller *et al.* 1977b; Bertero *et al.* 1999a; Bendevis *et al.* 2014a; Isobe *et al.* 2016, 2018).

La exposición de quínoa bajo LD durante la floración (previo a antesis) en condiciones semicontroladas, prolongó el período de floración y los primeros estadios del crecimiento de los granos (Bertero *et al.* 1999a; Bendevis *et al.* 2014a). Sin embargo, en condiciones de campo (a partir de fechas contrastantes de siembra) donde el fotoperíodo y la temperatura varían conjuntamente, en general se registró que los LD y cálidos disminuyeron la duración de la post- floración en relación a los SD y fríos (Isobe *et al.* 2016). Por otro lado, los LD durante la floración incrementaron la generación de biomasa aérea tanto en *cv.* sensibles como insensibles (*i.e.*, neutros) al fotoperíodo para la inducción floral (Bendevis *et al.* 2014b). En los LD impuestos en floración se produjo una mayor biomasa vegetativa (Bendevis *et al.* 2014a) y también impuestos durante la antesis aumentaron la altura de las plantas (Christiansen *et al.* 2010). Los LD afectaron el desarrollo reproductivo, disminuyendo el número (Bendevis *et al.* 2014b; Isobe *et al.* 2018), tamaño (Bertero *et al.* 1999 a; Isobe *et al.* 2018) y el peso de los granos por planta (Bendevis *et al.* 2014a, b; Isobe *et al.* 2018). Solo en un *cv.* insensible al fotoperíodo para la inducción floral, los LD en floración aumentaron la biomasa reproductiva (*i.e.*, conjunto de granos y perigonios) (Bendevis *et al.* 2014a) y el peso de los granos por planta (Bendevis *et al.* 2014b). En amaranto los LD posterior a floración aumentaron el número y largo de las ramificaciones (Koller *et al.* 1977b). En esta especie, no se ha reportado el efecto aislado del fotoperíodo en el desarrollo de la biomasa reproductiva; pero en condiciones de campo se registró que los

LD y cálidos durante la post-floración aumentaron tanto el número como el peso de los granos en comparación de los SD y fríos (De Troiani *et al.* 2004; Zubillaga *et al.* 2019). A partir de lo anterior se puede hipotetizar que en estos pseudocereales existe un efecto del fotoperíodo posterior a la antesis, y sería relevante analizar experimentalmente si los LD en post- antesis modifican la duración de esta etapa y la producción de la biomasa.

En diferentes especies de SD para la floración, tales como “soja” (*Glycine max* (L.) Merr), “arroz” (*Oriza sativa* L.), “sorgo” (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) se asocia la demora de la senescencia foliar a la ausencia de estructuras reproductivas (*v.g.*, por remoción de frutos y semillas, uso de líneas estériles) (Leopold *et al.* 1959; Lindoo & Nooden 1977; Biswas *et al.* 1980; Crafts-Brandner & Egli 1987b; Khana-Chopra & Sinha 1988; Kim *et al.* 2011b), y/o el retardo en el desarrollo de los frutos y granos (*v.g.*, restricción mecánica de su desarrollo) (Crafts-Brandner & Egli 1987a; Egli *et al.* 1987; Miceli *et al.* 1995). En particular en soja, en el capítulo II de esta tesis se reportó que bajo LD post- antesis se demoran el desarrollo reproductivo de las vainas (*i.e.*, frutos) y granos, y esto podría explicar en parte (ver Cap. II y V) la demora en la degradación de las clorofilas foliares y la persistencia en la asimilación de dióxido de carbono (*i.e.*, demora de la senescencia de tipo “funcional”; Thomas & Howarth 2000). En quínoa como se describió previamente existen reportes de la demora del desarrollo reproductivo en LD post-floración, sin embargo, estos no fueron asociados con la senescencia de las hojas. En relación a las senescencias foliar, solo existe (en mi conocimiento) un reporte de la demora de la senescencia de las hojas en LD post-antesis, evidenciado por la mayor duración del canopeo de las plantas (*i.e.*, abscisión foliar retrasada) en comparación de las plantas expuestas bajo SD (Cristiansen *et al.* 2010). Por lo tanto, en quínoa y amaranto puede ser relevante entender el efecto de los LD en post-antesis sobre el desarrollo reproductivo de los granos y su posible vinculación con la senescencia foliar.

En base a lo expuesto anteriormente, los objetivos de este capítulo fueron determinar si la exposición bajo LD luego de antesis en quínoa y amaranto modifican: 1- el desarrollo reproductivo de los granos; 2 - la degradación de las clorofilas foliares y la asimilación neta de dióxido de carbono; y 3 - la tasa de producción y la cantidad de biomasa vegetativa y reproductiva producida en este período.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Condiciones de cultivo y material vegetal

Se llevaron a cabo 3 experimentos en condiciones semicontroladas de invernáculo durante los años 2017, 2018 y 2019 en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE - Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad

Nacional de La Plata – CONICET; Argentina, 34° 55´ S, 57° 58´O). Las especies utilizadas en el año 2017 fueron quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd) cultivar (cv.) Baer I (Semillas Baer) y cv. Kankolla (F. Flores), y amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) cv. Don Guiem (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). En el año 2018 se utilizaron Quínoa (Q.) cv. Baer I, Q. cv. Kankolla y amaranto (A.) cv. Don Guiem, y en el año 2019 solo se analizó Q. cv. Kankolla. Se seleccionaron estos cvs. de quínoa por estar adaptados a diferentes condiciones ambientales; los cv. Baer I y cv. Kankolla corresponden a ecotipos de nivel del mar (adaptados a 36-39 ° Lat. Sur, 0-500 m.s.m.) y altiplano (adaptados a 15-17 ° Lat. Sur, ca. 4000 m.s.m.) respectivamente, *sensu* Tapia *et al.* (1979). El cv. de amaranto se seleccionó por ser de uso habitual en esta región.

Para la germinación los granos se embebieron con agua destilada en vermiculita y permanecieron en cámara termostaticada (24 ° C) y oscuridad. Una vez ocurrida la germinación visible (*i.e.*, emergencia de la radícula) se las traspasó a invernáculo, donde se trasplantaron en contenedores de 7 L con un sustrato de tierra negra. El traspaso a invernáculo se efectuó durante la segunda mitad de mayo, febrero y primera mitad de febrero para los años 2017, 2018 y 2019 respectivamente. Los contenedores fueron agrupados en bloques y rodeados con contenedores con plantas similares con el objetivo de reducir los efectos de borde. El sustrato se fertilizó con 10 g pl⁻¹ de una mezcla granulada de nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, magnesio y trazas de boro, hierro, zinc y manganeso (Nitrofull Emergence, BERTINAT, Argentina) al momento del pasaje al invernáculo y en la antesis de cada especie. Durante todo el ensayo el riego fue realizado cada 1-3 días dependiendo de la demanda evapotranspiratoria. La temperatura del invernáculo fue controlada durante los 3 experimentos y en promedio fue de 19.5 ± 4.1 / 15.7 ± 2.5 °C diurna/ nocturna.

3.2.2. Tratamientos fotoperiódicos

Las plantas desde el pasaje a invernáculo hasta la antesis se expusieron al fotoperíodo natural para lograr la floración. Una vez alcanzada la antesis comenzaron los tratamientos fotoperiódicos post-antesis. Para tal fin las plantas se dividieron en dos grupos (bloques), los cuales fueron sometidas al fotoperíodo natural, correspondiente a tratamiento fotoperiódico de “día corto” (SD, inductivo), y a la otra mitad se las expuso bajo un tratamiento fotoperiódico de “día largo” (LD, no inductivo). El tratamiento LD se generó agregando al fotoperíodo natural (al momento de la puesta de sol) una fuente de luz artificial durante 4 h. En forma complementaria a los tratamientos fotoperiódicos descriptos, se realizaron cuatro ensayos, donde las plantas fueron mantenidas durante pre-antesis y post-

antesis bajo SD (SDSD) o LD (LDLD) con el objetivo de corroborar que los cultivares utilizados son sensibles y respondían al cambio del fotoperíodo (Tabla suplementaria 3.1)

La fuente de luz artificial fue un tubo de diodo emisor de luz (LED) ubicado a 1.6 m sobre el nivel del suelo. Las mediciones de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) emitida por el tubo LED se realizaron a los 0.23 (borde superior de los contenedores), 0.8 y 1.3 m sobre el nivel del suelo, arrojando una densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD) de 1, 2 y 4 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente (sensor PAR lineal BAR-RAD 100 - Cavadevices, Argentina). Los valores mencionados de PPFD están por debajo del rango de punto de compensación lumínico citados para quínoa (*i.e.*, 21 – 54 $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Geissler *et al.* 2015; González *et al.* 2018, 2019) y amaranto (*i.e.*, 36 – 168 $\mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Hand *et al.* 1993; Jha *et al.* 2008; Pietrini *et al.* 2017), por lo que no agregaron radiación en términos fotosintéticos. La relación roja/rojo lejana (fluencia 660 nm/fluencia 730 nm) de la fuente de luz artificial fue de 1.4 (USB650, Red Tide, OceanOptics, Estados Unidos), por lo que fue similar (levemente mayor) a luz solar directa.

3.2.3. Determinaciones ambientales y fenológicas

El fotoperíodo a lo largo de los experimentos se calculó como la diferencia entre la salida y puesta del sol (*i.e.*, sin tener en cuenta los horarios de los crepúsculos matutino y vespertino), según el Servicio de Hidrografía Naval Argentina (www.hidro.gov.ar). La radiación solar global incidente se midió cada 5 minutos y se integró a lo largo del día, mediante un piranómetro ubicado a 40 m de altura y a 500 m del invernáculo incorporado a una estación meteorológica (Vantage Pro2, Davis Instruments, Estados Unidos) (Departamento de Sismología e Información Meteorológica, Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas, Universidad Nacional de La Plata). La radiación solar global incidente se transformó a PAR incidente con el factor 0.48 (Gosse *et al.* 1986, Andrade 1995, Ojeda *et al.* 2018). El PAR acumulado (PARac) durante toda la etapa de post-antesis fue calculado como la suma del PAR incidente diario. En el cálculo del PAR acumulado diario no se tuvo en cuenta el PAR agregado por las lámparas por ser menor al punto de compensación lumínico, tal como se describió anteriormente (Sección 3.2.2). A pesar que el PAR incidente es una medición que no estima la intercepción *per se*, puede ser tomada como una medida orientativa de la radiación a la que estuvieron sometidas las plantas durante post- antesis (como en Higgs *et al.* 1983; Andrade 1995).

La determinación fenológica se realizó para quínoa según Sosa-Zuniga *et al.* (2016) y en el caso de amaranto según Martines-Nuñez *et al.* (2019) (Tabla 3.1). En el experimento 2017 la fenología se determinó al inicio de los tratamientos fotoperiódicos (antesis) y a los 45, 81 y 63 días post- antesis (dpa) en Q. Baer, Q. Kankolla y A. Don Guiem respectivamente cuando se finalizó el ensayo en ambos tratamientos. En los experimentos

2018 y 2019 la fenología se determinó periódicamente (5-7 días) desde el inicio del tratamiento (antesis) hasta la madurez de cosecha. El fin de antesis e inicio de madurez de cosecha, fueron usados para determinar la duración de los periodos de antesis, generación-llenado de granos, y maduración de grano. La madurez de cosecha se consideró cuando tanto los granos de la inflorescencia principal como los de las ramificaciones estaban maduros (Tabla 3.1). Para ser considerado un cambio del estado fenológico, más del 50 % de la población (bloque) en estudio tenía que tener un cambio en la fenología. La duración de las etapas fenológicas se expresó en días calendarios sin corrección por la temperatura, ya que la misma fue prácticamente constante a lo largo de la post- antesis.

Tabla 3.1. Escala fenológica post- antesis para quínoa y amaranto adaptada a partir de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019).

Estado fenológico (código fenológico)	Descripción
Inicio de antesis (At)	Inflorescencia del tallo portando flores con anteras expuestas.
Fin de antesis (At)	Inflorescencia del tallo portando flores con anteras senescentes.
Grano acuoso (Ac) – lechoso (Le)	Inicio de generación y de llenado granos en inflorescencia del tallo. Granos con exudación de líquido acuoso o blanquecino.
Grano pastoso (Pa)	Llenado de grano en inflorescencia del tallo. Granos de consistencia pastosa húmeda, ceden ante la presión.
Grano duro (Du)	Final de llenado de grano en inflorescencia del tallo. Grano de consistencia dura y húmeda que no cede ante la presión.
Madurez de cosecha (MC)	Grano maduro (consistencia: duro y seco) en inflorescencias del tallo y ramificaciones. Tallo y hojas secas y deshidratadas, mayoría de hojas abscindidas.

3.2.4. Determinaciones de la senescencia foliar

El desarrollo de la senescencia en las hojas durante la post-antesis se determinó a partir de la medición de la degradación de las clorofilas foliares, de la disminución de la asimilación neta de dióxido de carbono (An) a saturación lumínica y de la abscisión foliar. La cuantificación de la degradación de las clorofilas foliares durante la post- antesis se realizó mediante mediciones no destructivas y destructivas. Las determinaciones no destructivas se efectuaron en el experimento 2018 y 2019 mediante la cuantificación indirecta de las clorofilas (“índice de verdor”) por medio del SPAD (SPAD 502, Konica-Minolta, Japón). Como una medida de la degradación de las clorofilas a nivel del canopeo, se determinó la mitad superior del tallo principal (a partir del conteo de nudos), y en las hojas ubicadas en

ese segmento se registró el índice de verdor en el período entre la antesis y la abscisión foliar. Para esta determinación a nivel del conopeo solo se consideraron las hojas de la mitad superior del tallo principal que ya estaban presentes al inicio del experimento (*i.e.*, las hojas generadas posterior al inicio del tratamiento no se tuvieron en cuenta). Por otro lado, también se siguió la evolución de la degradación de las clorofilas en hojas individualizadas en el tallo principal. Para individualizar las hojas se tomó como referencia la hoja más apical plenamente expandida (hoja completamente desarrollada y sin síntomas de senescencia) al inicio del experimento (designada como “hoja 0”) y a partir de esta se midieron hojas inmediatamente inferiores y superiores, cuya notación fue -1,-2, +1, +2 y +3. Todas estas hojas estuvieron expuestas a luz solar directa durante el experimento. En cada hoja se realizaron 3 mediciones sucesivas: en el segmento basal, medio y distal, con una periodicidad de 5-7 días hasta el momento de la abscisión. Por razones de cuantificación en el caso de las hojas abscindidas se les adjudicó arbitrariamente un valor “cero” de SPAD (degradación máxima de clorofilas). A pesar que las hojas pueden abscindir con valores positivos de SPAD, la posible sobreestimación de degradación de las clorofilas a partir de la adopción de este criterio afecta a ambos tratamientos fotoperiódicos (*i.e.*, no aporta una fuente de variación entre tratamientos).

Por otro lado, a partir de mediciones destructivas de las hojas y las absorbancias de las clorofilas se determinó en forma directa la concentración de las mismas en forma espectrofotométrica. Para ellos se extrajeron discos de 0.5 cm de diámetro que se colocaron en 1 ml de *N, N* - dimetilformamida por 72 horas en oscuridad. Los discos se extrajeron en el experimento 2018 de los Q. cv. Baer I y A. cv. Don Guiem y en el experimento 2019 en Q. cv. Kankolla; Las extracciones de los discos se realizaron en todos los cvs. en la hoja de posición +1 al momento de la antesis y en tiempos posteriores durante la post- antesis. Se calculó la absorbancia en el espectrofotómetro (UV-160A, Shimadzu, Japón) con una luz monocromática de longitud de onda correspondiente a 664 nm y 647 nm (máximas absorbancias de la clorofila a y b respectivamente). A partir de estos valores de absorbancia, se calcularon las concentraciones de clorofilas totales en las hojas de la siguiente manera (Inskeep y Bloom, 1985):

Clorofilas Totales ($\mu\text{g cm}^{-2}$): (17.90 * Absorbancia 647 nm) + (8.08 * Absorbancia 664 nm)

La modificación en la asimilación neta de dióxido de carbono (A_n) durante la post-antesis en el experimento 2018 y 2019 se realizó con un analizador de gases por infrarrojos (IRGA, CIRAS 2 Portable Photosynthesis Systems, PP systems, Estados Unidos) utilizando la cámara (“pinza”) PLC6. Las mediciones se realizaron en la hoja 0, con una periodicidad de 6-7 días, durante las 11- 14:30 h del día (período en el día de mayor irradiancia y A_n ;

Thomas & Hill, 1937). La cuantificación de A_n se realizó a saturación lumínica (A_{sat} o capacidad fotosintética), por lo que en días nublados previos a la medición las hojas eran aclimatas durante 20- 30 min, con lámparas dicróicas con una irradiancia similar a la utilizada en la cámara de medición. Las condiciones de la cámara de medición del IRGA fueron: PFD (“irradiancia”) 1500 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, concentración de CO_2 de 360 ppm, temperatura 25 ° C y humedad 10 mbares. Las mediciones de A_n en cada planta se discontinuaron en el momento de la abscisión de la hoja medida, cuyo valor fue asignado entonces como 0 $\mu\text{moles CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (A_n nula). En el transcurso de las mediciones, se fueron alternando los cultivares y tratamientos, para evitar sesgos temporales durante la franja horaria utilizada. La irradiancia de 1500 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ incidentes en la cámara de medición fue suficiente para lograr la A_{sat} en todas las especies. El amaranto es una especie con metabolismo fotosintético C_4 , por lo que requiere mayores irradiancias para alcanzar la A_{sat} (Sage & Pearce 1987a; Ye *et al.* 2020). Por lo tanto, el cv. Don Guiem de amaranto se expuso a irradiancias crecientes de 1500, 1750 y 2000 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y se comprobó que no existieron cambios significativos en la A_n (*i.e.*, se alcanzaba la saturación), por lo que las mediciones durante la post-antesis se realizaron a 1500 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Se determinó como el inicio del avance de la degradación de las clorofilas (a partir de SPAD) y el inicio de avance de la disminución de la A_n el primer valor de SPAD o A_n (según corresponda) en el cual la tendencia a la disminución de estas variables se hacía continua. A partir de estos inicios de avance y la degradación máxima de clorofilas (*i.e.*, SPAD 0) y A_n nula, se calcularon las tasas de avance de degradación de las clorofilas y tasa de avance de la disminución de la A_n ajustando una recta de regresión en este período. También en este período, y como un indicador de la asociación entre dos síntomas de la senescencia foliar, se ajustó una recta o curva de regresión entre los valores de SPAD y A_n .

Como otro síntoma indicador de la senescencia foliar, las hojas abscindidas durante toda la etapa de post- antesis se recogieron con una periodicidad de 2-3 días y rápidamente se las colocaba en estufa de secado a 60 °C por al menos por 15 días (para lograr peso constante). Posterior al secado se las pesó (Mettler Toledo, Argentina) y con este dato se calculó el porcentaje acumulado de canopeo abscindido en el transcurso de la post-antesis relativo al total del peso del canopeo abscindido durante toda la post- antesis. El porcentaje de canopeo abscindido es la inversa de la retención de las hojas en planta a lo largo del tiempo y es otro indicador estimativo de la senescencia foliar. Además, la abscisión foliar de todo el canopeo (*i.e.*, 100 % de abscisión del canopeo) en un síntoma de la senescencia monocárpica en plantas².

² Senescencia a nivel de toda la planta (*i.e.*, hojas, tallos, frutos), en plantas en las que existe un solo ciclo reproductivo previo a la muerte de las mismas (Nooden *et al.* 2004).

3.2.5. Determinación y análisis de biomasa

En el experimento 2018 y 2019 en todas las especies se realizaron dos muestreos destructivos, los cuales fueron al inicio del tratamiento (antesis) y otro a madurez de cosecha (MC). Adicionalmente, en *A. cv. Don Guiem* y en *Q. cv. Kankolla* del experimento 2018 y 2019 respectivamente se realizó un muestreo a los 45 días post-antesis (dpa). En ambas especies las plantas se dividieron en tallo principal y ramificaciones. Las ramificaciones incluyeron tanto las ramificaciones axilares y como las ramificaciones extra-axilares (*i.e.*, ramificaciones que se generan en la axila de otra ramificación preexistente). En cada una de ellas se individualizaron el tallo principal o ramificación, las hojas, el raquis de las inflorescencias, los granos (conjunto de semilla y pericarpio fusionado) y perigonio (*i.e.*, recubrimiento del grano no fusionado al mismo). En quínoa y amaranto la lámina foliar y el pecíolo no abscinden independientemente entre ellos por lo cual su conjunto se definió como “hoja”. Una vez realizada la separación del material se colocó en una estufa de secado (60 °C) durante al menos 15 días (para lograr peso seco) y posteriormente se pesó (Mettler Toledo, Argentina). La sumatoria del peso de tallo, ramificaciones, raquis de las inflorescencias y hojas se denominó “biomasa vegetativa”, y la sumatoria de peso de semillas y perigonio se denominó “biomasa reproductiva”; la adición de ambas biomásas se denominó “biomasa total”. Las hojas abscindidas, tal como se mencionó en la sección 3.2.4., fueron recolectadas y pesadas, y la sumatoria del peso de estas hojas se denominó “biomasa abscindida”.

Por otro lado, en cada muestreo también se contabilizó el número de nudos del tallo principal, ramificaciones y semillas. El número de grano se cuantificó en su totalidad cuando fue inferior a 2000 granos en toda la planta. Cuando el número de granos superó esta cantidad, se contabilizaron 2000 granos y se calculó el número total granos por planta a partir de la relación: **$Número\ de\ grano\ pl^{-1} = (Peso\ de\ granos\ pl^{-1} * 2000\ granos) / (peso\ de\ 2000\ granos)$** . También se calculó el peso individual de grano, como la relación entre el *peso de grano pl⁻¹* y *número de granos pl⁻¹*.

A partir del peso de la biomasa total se calculó la tasa promedio de crecimiento absoluto por planta (AGR), que estima el cambio de biomasa de la planta entre 2 muestreos sucesivos (Hunt 1990), y la tasa promedio del crecimiento relativo (RGR) por planta que es un estimador de la biomasa acumulada en relación a la biomasa presente en un período de tiempo (Radford 1967):

$$AGR = (P_2 - P_1) / (T_2 - T_1)$$

$$RGR = (\ln P_2 - \ln P_1) / (T_2 - T_1)$$

Donde **P** es el peso de la biomasa aérea, **T** es tiempo en días calendarios, 1 y 2 son subíndices que representan diferentes tiempos de muestreo.

Por otro lado, se calculó la partición de la biomasa en biomasa vegetativa y reproductiva por planta utilizando el índice de cosecha modificado (HI)³ de Donald & Hamblin (1976). Para ello se tuvieron en cuenta el peso de grano o la biomasa reproductiva, y la biomasa total o la biomasa total adicionando la biomasa abscindida por planta según:

$$\text{Partición a grano/ a biomasa reproductiva} = (\text{Peso grano o Biomasa reproductiva}) / (\text{Biomasa total o biomasa total} + \text{biomasa abscindida})$$

3.2.6. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron a partir de modelos lineales mixtos (mlg) o modelos lineales generalizados mixtos (mlgm), donde el factor fijo fue el tratamiento fotoperiódico post-antesis y el factor aleatorio fue el contenedor (cada contenedor tenía una planta). En todos los experimentos los muestreos destructivos y no destructivos tuvieron al menos 5 repeticiones por tratamiento. Se comprobó la distribución normal de los datos a partir del Test de *Shapiro Wilk* (P 0.05), en caso de cumplirlo se usó un mlg y en caso de no cumplirla se utilizó un mlgm (Distribución *Poisson*, *Binomial negativa*, *Gamma*) donde se comprobó que no existió sub o sobre parametrización del modelado de los datos (*desviante/grado de libertad* ≈ 1). También se comprobó la homogeneidad de la varianza a partir de la prueba de Levene (P 0.05), en caso de no cumplir la misma, al modelo se le agregó una varianza heterogénea (función *Var Ident*). Los ANOVAS de los modelos mixtos se analizaron a 3 niveles de significancia estadística (P 0.05, 0.01, 0.001).

Las mediciones repetidas en el tiempo (*i.e.*, determinaciones directa e indirecta de contenido de clorofilas y An) se analizaron como datos longitudinales. Como factor fijo se utilizó el tratamiento fotoperiódico post-antesis, el tiempo y la interacción tratamiento-tiempo, y como factor aleatorio el contenedor. Se agregó una estructura de correlación (*simetría compuesta, sin estructura, autorregresiva continua de orden 1*) entre contenedores a lo largo del tiempo y se modeló la varianza de ser necesario. Cuando existió más de un modelo longitudinal posible, se seleccionó el de menor valor de Akaike (AIC) (Di Rienzo *et al.* 2017). Las contrastaciones dentro de un mismo tiempo entre tratamientos fotoperiódicos se analizaron a 3 niveles de significancia (P 0.05, 0.01, 0.001).

La tasa de avance de la degradación de las clorofilas y la tasa de avance de disminución de la An se calculó mediante el ajuste de una recta de regresión. Para ello se

³ El cálculo original de índice de cosecha (HI) de Donald & Hamblin (1976) solo considera la biomasa de granos, y la biomasa aérea no incluye la biomasa abscindida ya que las especies utilizadas para el cálculo son cereales donde la abscisión foliar no sucede. En este capítulo se consideró además de la biomasa de granos, la biomasa reproductiva que incluye los granos y perigonios; Por otro lado, también en este capítulo se tuvo en cuenta la biomasa abscindida.

utilizaron como factores fijos el tratamiento, tiempo y sus interacciones, y como factores aleatorios el contenedor. Por otro lado, para relacionar el avance de la degradación de las clorofilas y la tasa de avance de la disminución de la An se ajustó una recta o curva de regresión (dependiendo del mejor ajuste), donde se utilizó la variable SPAD como covariable de la An. En este caso el factor fijo fue el tratamiento y el aleatorio fue el contenedor. En estos análisis de regresión, se adjuntó una estructura de correlación entre los contenedores y se modeló la varianza de ser necesario (varianza heterogénea, exponencial (*var Exp*), potencia (*var Power*), potencia corrida por una constante (*var Const Power*)). A partir de la elección del mejor modelo (criterio de AIC), se comprobó que cumpliera el supuesto de distribución normal y de distribución aleatoria de los residuos “estudentizados” en función de los predichos. Las diferencias estadísticas entre tratamiento se analizaron a tres niveles de significancia (P 0.05, 0.01, 0.001). Se comprobó que las rectas o curvas ajustadas sean significativamente diferentes de cero (*i.e.*, asociación significativa entre variables), y cumpliendo esto se calculó el coeficiente de determinación (R^2) para cada tratamiento fotoperiódico post-antesis. También se determinó la asociación entre el índice de verdor SPAD (determinación indirecta de clorofilas) y la concentración de clorofilas foliares (determinación directa de clorofilas por extracción y espectrofotometría) a través del coeficiente de correlación de Pearson.

El programa estadístico utilizado fue InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020), que implementa una interfaz “amigable” con R para la estimación de los modelos mixtos a través de las funciones *gls* y *lme* de la librería *nlme* (Pinheiro *et al.* 2020), función *glm* librería *stats* (R Core Team 2020) y *glmer* de la librería *lme4* (Bates *et al.* 2011). Los gráficos se realizaron con el programa Excel versión 2016 (Microsoft Office Profesional Plus 2016).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Fenología y condiciones ambientales durante post-antesis

En el experimento del año 2017 la antesis se alcanzó después del solsticio de invierno (*i.e.*, 21 de junio, mínimo fotoperíodo del año) por lo cual las especies estuvieron sometidas a un fotoperíodo creciente durante post-antesis (Fig. suplementaria 3.1). En cambio, en los experimentos de los años 2018 y 2019 todas las especies alcanzaron la antesis antes del solsticio de invierno (Fig. suplementaria 3.1). En el experimento 2018 en quínoa (Q.) *cv.* Baer, las plantas de ambos tratamientos alcanzaron la madurez de cosecha (MC) antes del 21 de junio y por lo tanto estuvieron expuestas en post-antesis a fotoperíodos decrecientes. En cambio, en Q. *cv.* Kankolla y amaranto (A.) *cv.* Don Guiem en ambos tratamientos la madurez de cosecha fue posterior al 21 de junio, por lo cual

estuvieron expuestas durante post- antesis a fotoperíodos decrecientes seguidos de fotoperíodos crecientes. En el experimento 2019 en Q. cv. Kankolla también la madurez de cosecha fue después del 21 de junio, por lo cual en ambos tratamientos la post-antesis tuvo una fase decreciente seguida de una creciente (Fig. suplementaria 3.1). En todos los experimentos a pesar del cambio natural de fotoperíodo a lo largo del año, los tratamientos bajo LD en post-antesis tuvieron 4 h adicionales de luz en relación a los de SD, y el rango de fotoperíodo (*i.e.*, variación entre el fotoperíodo mínimo y máximo durante post- antesis) en ambos tratamientos fue del orden de 0.8 - 2.7 h, a excepción de Q. cv. Kankolla del experimento 2018 bajo LD donde fue un poco mayor (Tabla 3.2, Tabla suplementaria 3.2).

En el experimento del año 2017 (el cual fue finalizado previo a madurez de cosecha) a los 45, 81 y 63 días post- antesis (dpa) en Q. cv. Baer, cv. Kankolla y A. cv. Don Guiem respectivamente, las plantas expuestas bajo LD tuvieron una demora en el desarrollo fenológico en relación a las expuestas bajo SD (Tabla suplementaria 3.2). Esta demora fue más evidente en Q. cv. Kankolla en relación a Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem (Tabla suplementaria 3.2). En el experimento 2018 y 2019 (donde las plantas alcanzaron la madurez de cosecha) la duración en días del período inicio de antesis a madurez de cosecha fue mayor en las plantas expuestas bajo LD en relación a las expuestas bajo SD (Tabla 3.2). En Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem esta diferencia fue de 16 días y en Q. cv. Kankolla fue de 141 y 61 días en el año 2018 y 2019 respectivamente (Tabla 3.2). En ambos experimentos y en todas las especies/cultivares, la exposición bajo LD prolongó la duración del período de antesis, generación - llenado de grano y maduración de granos (Fig. suplementaria 3.2). En Q. cv. Baer, tanto los períodos de antesis como el de madurez de grano fueron los que más se incrementaron, entre un 50-57 % de mayor duración bajo LD en relación de SD (Fig. suplementaria 3.2). En Q. cv. Kankolla en ambos experimentos, el período que experimentó una mayor prolongación fue la maduración de grano, que tuvo una duración entre un 77- 465 % mayor bajo LD en comparación de SD (Fig. suplementaria 3.2). En A. cv. Don Guiem se observó un incremento similar en todos los períodos en los LD en relación de SD (Fig. suplementaria 3.2).

En el experimento de los años 2018 y 2019 consecuentemente con la mayor duración de la post- antesis las plantas expuestas bajo LD tuvieron un mayor PAR acumulado (PARac) en relación a las plantas bajo SD. En el experimento del año 2018 el PAR acumulado fue entre 20-24% mayor en Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem expuesto bajo LD en comparación de SD (Tabla 3.2). Por otro lado, en Q. cv. Kankolla el incremento en el PAR acumulado en post- antesis fue entre un 100- 400% mayor bajo LD en relación de SD en ambos años (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Duración, rango de fotoperíodo y radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimentos de los años 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Duración antesis- madurez de cosecha (d)	Rango de fotoperíodo (h)	PARac (MJ m ⁻²)
2018				
Q. Baer	SD	54	10.2 – 11.8	243.8
	LD	70	13.9 – 15.8	303.6
Q. Kankolla	SD	53	9.8 – 10.6	205.3
	LD	194	13.8 – 17.9	1046.4
A. D.Guiem	SD	118	9.8 – 11.0	442.7
	LD	134	13.8 – 15.5	530.2
2019				
Q. Kankolla	SD	100	9.8 – 10.9	374.8
	LD	161	13.8 – 16.4	742.0

La PARac se calculó por la sumatoria de radiación global incidente diaria transformada por el factor 0.48 en cada intervalo. Ver materiales y métodos para una descripción más detallada.

3.3.2. Senescencia foliar durante la etapa post-antesis

En los experimentos de los años 2018 y 2019, la degradación de las clorofilas foliares (estimada en forma indirecta a partir del “índice de verdor” SPAD) en todas las especies/cultivares estuvo demorada en las plantas expuestas durante post-antesis bajo LD en comparación a las expuestas bajo SD. A nivel de las hojas ubicadas en la mitad superior del tallo principal (*i.e.*, estimador de la degradación de clorofilas en la mitad superior del canopeo), el retraso en la degradación de las clorofilas bajo LD en comparación de SD, se comenzó a evidenciar inicialmente en A. cv. Don Guiem (a 9 días post-antesis, dpa), luego en Q. cv. Baer (a los 22 dpa) y finalmente en Q. cv. Kankolla (a los 35 y 42 dpa en experimento 2018 y 2019 respectivamente) (Fig. 3.1). Por otro lado, la abscisión de las hojas de la mitad superior del canopeo estuvo demorada en 18 días bajo LD en comparación de SD en Q. cv. Baer y entre 30-34 días en Q. cv. Kankolla en ambos años; mientras que en A. cv. Don Guiem al momento de finalizar el experimento en ambos tratamientos fotoperiódicos la abscisión de las hojas ubicadas en la mitad superior del canopeo no era total (Fig. 3.1).

En hojas individualizadas en el tallo principal también se evidenció una demora de la degradación de las clorofilas (SPAD) y la abscisión foliar en todas las especies/cultivares expuestas bajo LD en comparación de SD en post- antesis. Sin embargo, estos síntomas de la demora de la senescencia en LD en post- antesis se manifestaron de diferente forma entre las especies/cultivares. En Q. cv. Baer en general no se registró cambio entre tratamientos en el inicio de avance de la degradación de las clorofilas (*i.e.*, primer valor de SPAD en el cual la tendencia a la disminución se hace continua) ni en la tasa de avance de

la degradación de las clorofilas (*i.e.*, calculada como la recta de regresión ajustada entre en inicio de avance de la degradación de las clorofilas y degradación máxima de clorofilas) en las hojas individualizadas en el tallo principal (Fig. 3.2). A pesar de ello, todas las hojas individualizadas en el tallo abscindieron al menos 6 días más tarde en los tratamientos bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.2). En ambos años (2018, 2019) en *Q. cv. Kankolla* en todas las hojas individualizadas en el tallo principal, el inicio de avance de degradación de las clorofilas no difirió entre tratamientos, en cambio la exposición bajo LD durante post-antesis disminuyó significativamente la tasa de avance de la degradación de las clorofilas en comparación de la exposición bajo SD (Fig. 3.3; Fig. Suplementaria 3.3). También se registró que bajo LD la abscisión de hojas individualizadas en el tallo principal se postergo entre 16-35 días (dependiendo de la hoja) en relación de SD (Fig. 3.3; Fig. Suplementaria 3.3). Por otro lado, en *A. cv. Don Guiem* en la mayoría de las hojas individualizadas en el tallo principal (-2,-1,+1,+2) el inicio del avance de la degradación de las clorofilas fue entre 16-22 días (dependiendo de la hoja) más tardío bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.4); además en las mayoría de las hojas individualizadas (-2,-1 y 0) se registró una disminución en la tasa de avance de la degradación de las clorofilas y una abscisión foliar más tardía bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.4).

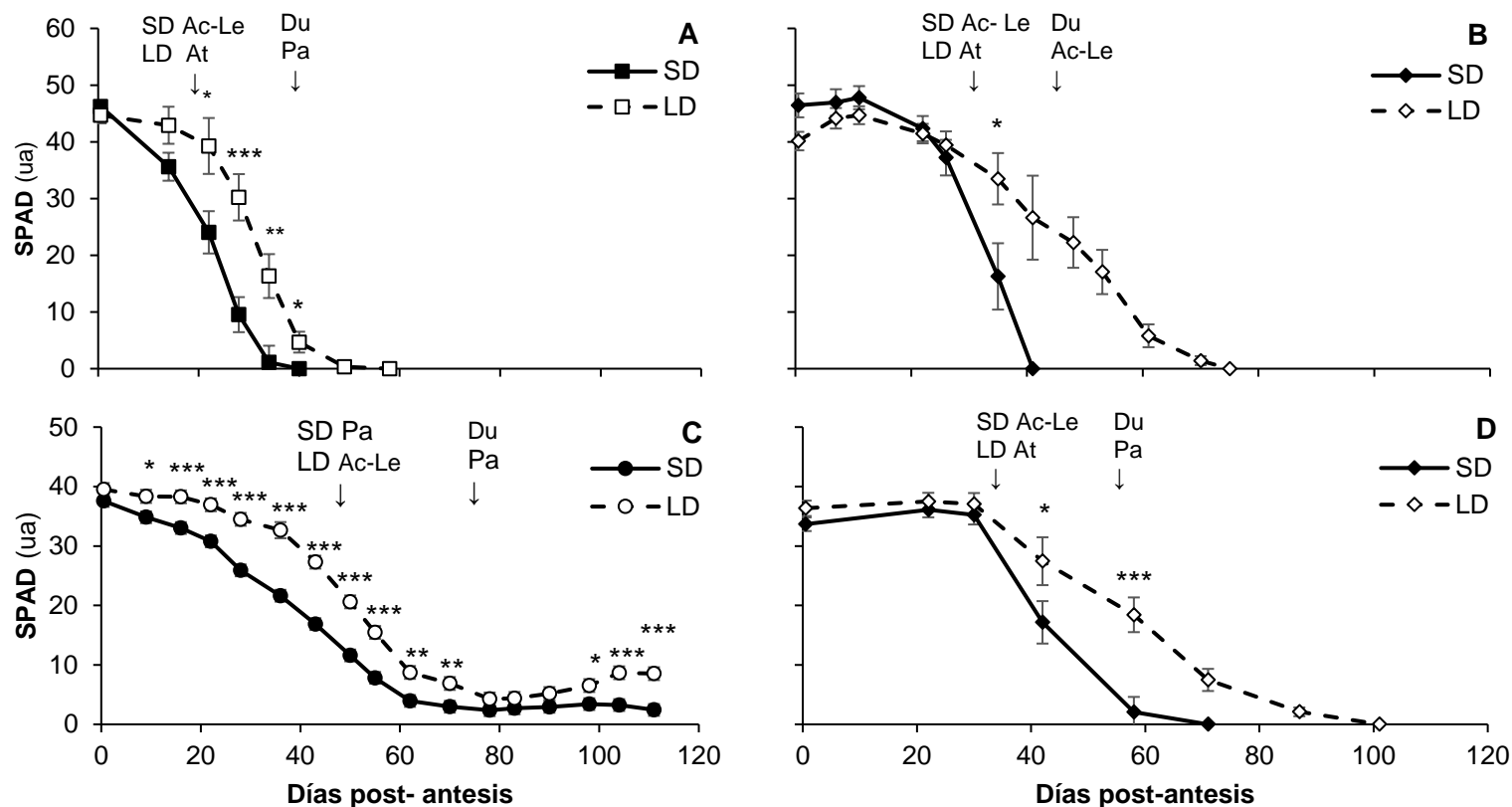


Figura 3.1. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir de índice de “verdor” SPAD) en la mitad superior del canopeo en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamientos de fotoperíodos cortos (SD) y largos (LD) durante post-antesis en experimento de año 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla en experimento del año 2019. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Núñez et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns diferencia no significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

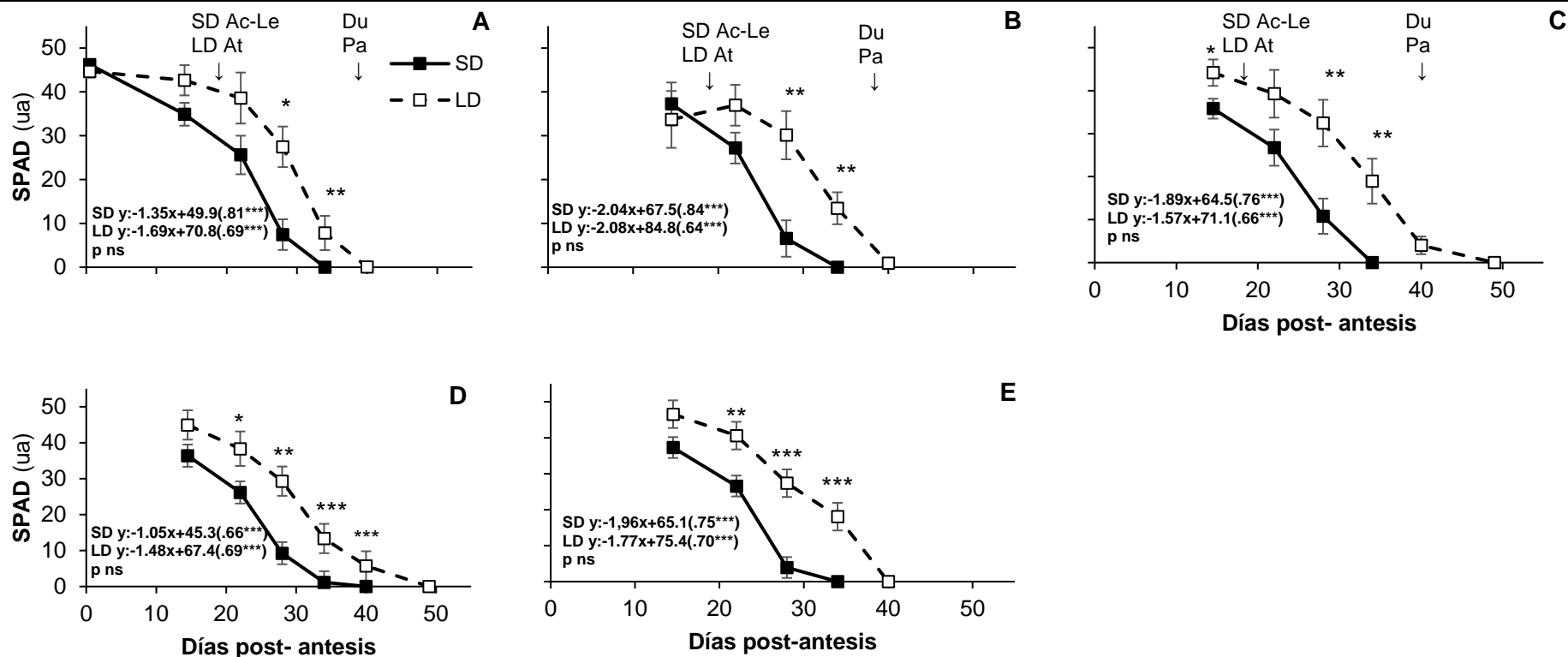


Figura 3.2. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir de índice de “verdor” SPAD) en hojas individualizadas en el tallo principal en plantas de quínoa cv. Baer expuestas a tratamientos de fotoperíodos cortos (SD) y largos (LD) durante post- antesis en experimento del año 2018. (A) SPAD de hoja 0, (B) hoja +1, (C) hoja +2, (D) hoja +3 y (E) hoja +4. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indica estadios fenológicos de Antes (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016). Las ecuaciones representan la tasa de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre en inicio de avance de la degradación y la degradación máxima de clorofilas); Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns diferencia no significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

Consistentemente con la demora de la degradación de las clorofilas determinadas por el “índice de verdor” (SPAD) la concentración de clorofilas foliares totales en todas las especies/cultivares fueron mayores bajo LD post-antesis en relación de SD (Fig. Suplementaria 3.4). En Q. cv. Baer (año 2018) y Q. cv. Kankolla (año 2019) la concentración de clorofilas totales fue significativa mayor a los 28 y 43 dpa (determinación final) respectivamente en los LD en comparación de los SD (Fig. Suplementaria 3.4). En cambio, en A. cv. Don Guiem (año 2018) la concentración de clorofilas totales comenzó a ser significativamente mayor tempranamente (16 dpa) y se mantuvo con esta tendencia hasta la última determinación (72 dpa) (Fig. Suplementaria 3.4). El coeficiente de correlación de Pearson entre en índice de verdor (SPAD) y la concentración de clorofilas foliares fue de 0.86-0.93, 0.75-0.80 y 0.95-0.95 (SD-LD) en Q. cv. Baer, Q. cv. Kankolla y A. cv. Don Guiem respectivamente.

La abscisión foliar de todo el canopeo (*i.e.*, indicador de la senescencia foliar y monocárpica) durante el período de post-antesis estuvo retrasada en todas las especies/cultivares expuestas bajo LD en comparación de SD (Fig. Suplementaria 3.5). En Q. cv. Baer la abscisión foliar de todo el canopeo se alcanzó a los 54 dpa en SD, momento en que las plantas expuestas a LD retienen el 18.5 % de las hojas; la abscisión total del canopeo bajo LD ocurrió 16 días más tarde que en SD (Fig. Suplementaria 3.5). En Q. cv. Kankolla la diferencia fue mayor, al momento de la abscisión foliar total del canopeo en las plantas expuestas bajo SD, las plantas expuestas en LD retiene un 74.2 % y un 40.1 % de las hojas y la abscisión foliar total del canopeo demora 141 y 61 días más que bajo SD en el experimento 2018 y 2019 respectivamente (Fig. Suplementaria 3.5). En A. cv. Don Guiem a los 98 dpa (momento en que se registró la última abscisión foliar), las plantas expuestas bajo SD retenían el 61.5 % de las hojas que constituyen el canopeo mientras que bajo LD se retenía un 10% más (Fig. Suplementaria 3.5).

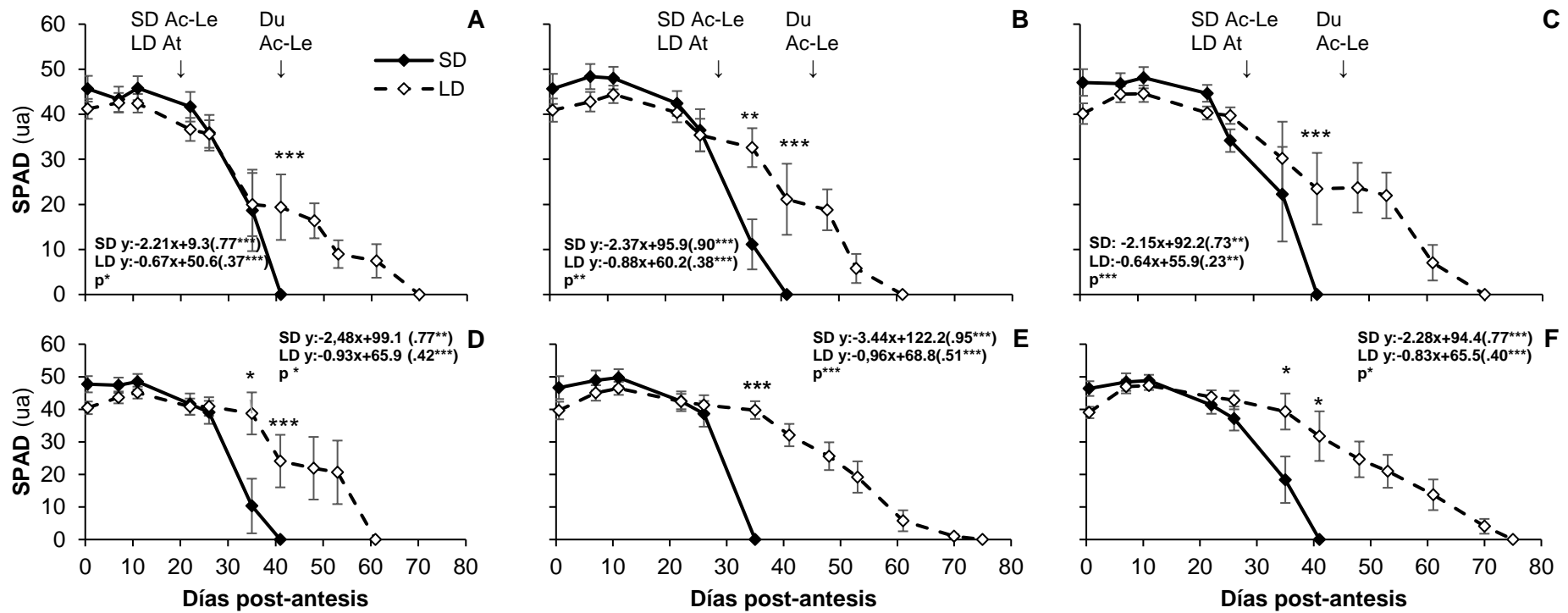


Figura 3.3. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir de índice de “verdor” SPAD) en hojas individualizadas en el tallo principal en plantas de quínoa cv. Kankolla expuestas a tratamientos de fotoperíodos cortos (SD) y largos (LD) durante post- antesis en experimento del año 2018. (A) SPAD de hoja 0, (B) hoja +1, (C) hoja +2, (D) hoja +3, (E) hoja +4 y (F) hoja +5. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016). Las ecuaciones representan la tasa de degradación de las clorofilas (calculada entre en inicio de avance de la degradación y la degradación máxima de clorofilas); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R²) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a P < 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns diferencia no significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

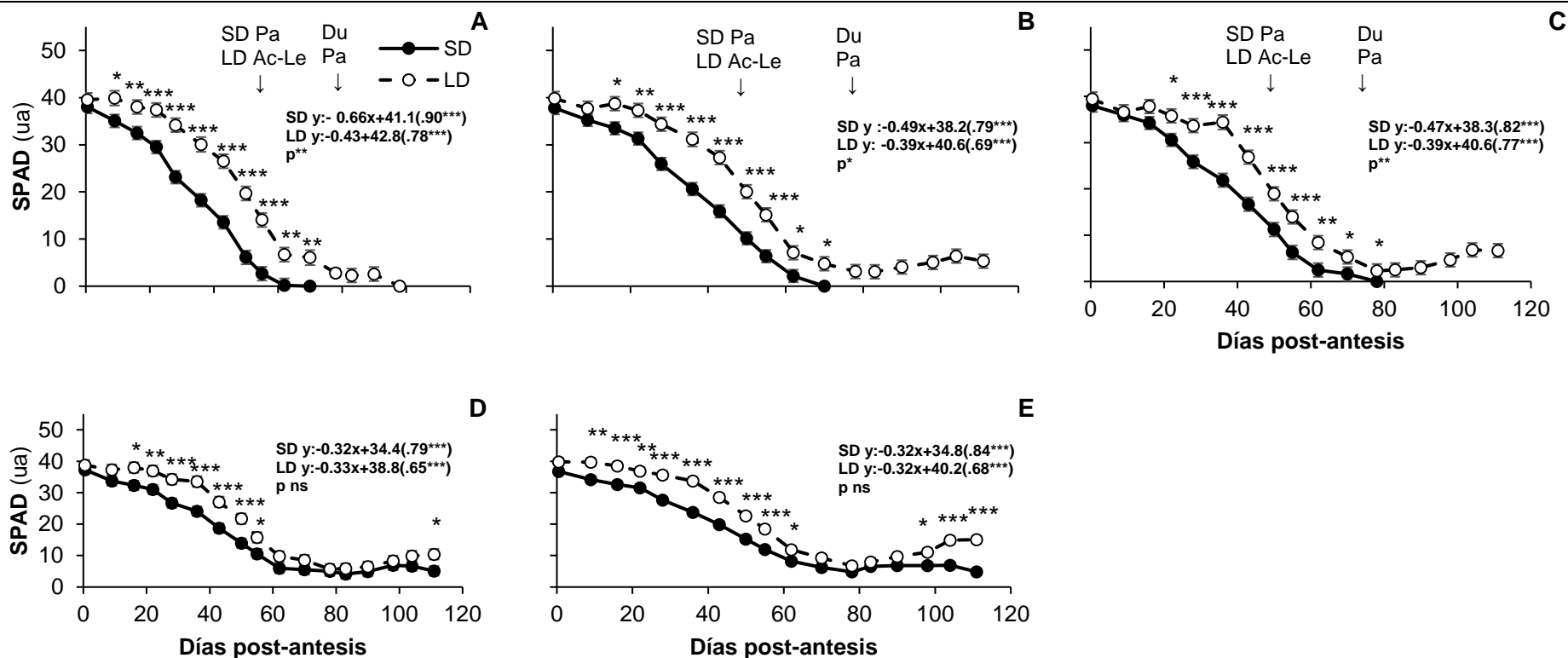


Figura 3.4. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir de índice de “verdor” SPAD) en hojas individualizadas en el tallo principal en plantas de amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamientos de fotoperíodos cortos (SD) y largos (LD) durante post- antesis en experimento del año 2018. (A) SPAD de hoja -2, (B) hoja -1, (C) hoja 0, (D) hoja +1 y (E) hoja +2. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indica estadios fenológicos grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Martínez-Nuñez et al. (2019). Las ecuaciones representan la tasa de degradación de las clorofilas (calculada entre en inicio de avance de la degradación y la degradación máxima de clorofilas); Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, ns diferencia no significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

En el experimento de los años 2018 y 2019 en todas las especies/cultivares la An (asimilación de CO₂ a saturación lumínica) se sostuvo por más tiempo durante la post- antesis en las plantas expuestas bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.5). El inicio de la disminución de la An (*i.e.*, primer valor de An en el cual la tendencia a la disminución se hace continua) no cambió entre tratamientos en la mayoría de especies/cultivares, a excepción de Q. cv. Baer donde el inicio de la disminución de An se demoró al menos 14 días bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.5). La tasa de disminución de la An durante post-antesis (*i.e.*, calculada por la recta de regresión ajustada entre el inicio del avance de la disminución de An y An nula) fue significativamente menor en la mayoría de las especies/cultivares expuestas bajo LD en relación de SD, a excepción de Q. cv. Baer donde no existió diferencia entre los tratamientos. Por otro lado, la An nula se registró bajo LD post-antesis 6, 13-27 (año 2018-2019) y 20 días posterior en Q. cv. Baer, Q. cv. Kankolla y A. cv. Don Guiem respectivamente que en SD (Fig. 3.5).

En ambos tratamientos y en todas las especies/cultivares en general el inicio de avance de la disminución de la An antecedió al inicio de avance de la degradación de las clorofilas (Fig. 3.3, 3.5; Fig. suplementaria 3.3); la excepción se registró en ambos tratamientos fotoperiódicos en Q. cv. Baer y bajo SD en A. cv. Don Guiem, donde el inicio de avance de disminución de An y de degradación de las clorofilas ocurrió al mismo tiempo (Fig. 3.2, 3.4, 3.5). A pesar del desfase en estos inicios, las tasas de avance de disminución de An y la tasa de avance de la degradación de las clorofilas se asociaron significativamente mediante una recta (para Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem) o una curva de regresión exponencial (para Q. cv. Kankolla) (Fig. suplementaria 3.6). El cálculo del coeficiente de determinación (R^2) fue superior al 0.82 y 0.71 para esas rectas y curvas de regresión ajustadas respectivamente en ambos tratamientos (Fig. suplementaria 3.6).

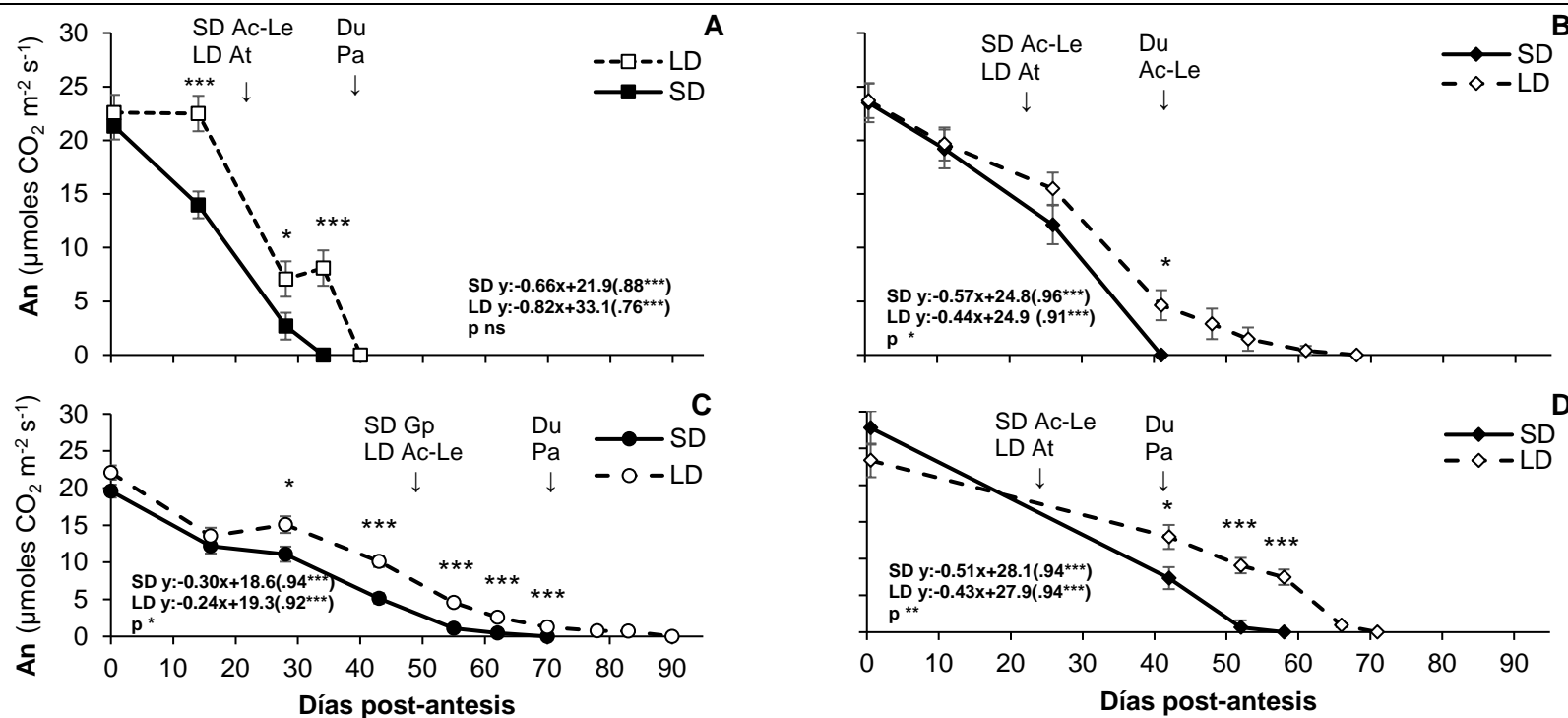


Figura 3.5. Modificación de la asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamientos de fotoperíodos de día cortos (SD) y largos (LD) durante post-antesis en los experimentos de 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en el experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla en el experimento del año 2019. En la parte superior del gráfico la flecha (\downarrow) indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez- Muñoz et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente. Las ecuaciones representan la tasa de avance de disminución de la A_n (calculada entre en inicio de avance de la disminución de A_n y A_n nula); Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencia estadísticamente significativa a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns diferencia no significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.



Figura 3.6. Vista general de plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en el experimento del año 2018. (A) Q. cv. Baer, a los 49 días post-antesis (dpa), (B) Q. cv. Kankolla a los 60 dpa, y (C) A. cv. Don Guiem a los 70 dpa.

3.3.3. Modificación de la biomasa vegetativa durante post- antesis

En el experimento del año 2019 en el muestreo realizado a los 45 dpa en Q. cv. Kankolla (correspondiente al estado fenológico de grano duro y pastoso para SD y LD respectivamente) las plantas expuestas bajo LD tuvieron un aumento significativo del 200% en la biomasa vegetativa (*i.e.*, peso conjunto de tallo principal, ramificaciones y hojas) en relación a las plantas bajo SD (Fig. 3.7). Consistentemente con el aumento de la biomasa vegetativa, bajo LD el peso de tallo principal, tallo de ramificaciones, peso de hojas y área foliar por planta se incrementó un 200, 34, 199 y 258 % respectivamente con respecto de SD (Fig. 3.7; Tabla suplementaria 3.3). El peso de hojas del tallo principal no varió entre tratamientos, en cambio el peso de hojas de ramificaciones aumentó 231% bajo LD con respecto de SD (Fig. 3.6). Por otro lado, en A. cv. Don Guiem (experimento del año 2018) en el muestreo realizado a los 45 dpa (correspondiente al estado fenológico de grano acuso-lechoso para ambos tratamientos) no se registraron cambios en la biomasa vegetativa entre los tratamientos fotoperiódicos (Fig. 3.7; Tabla suplementaria 3.3). En este tiempo de muestreo el número de nudos del tallo principal y número de ramificaciones en ninguno de las dos especies tuvo cambios entre los tratamientos (Tabla suplementaria 3.3).

En los experimentos de los años 2018 y 2019 a madurez de cosecha (MC) todas las especies/cultivares expuestas bajo LD tuvieron una biomasa vegetativa significativamente mayor que las plantas expuestas bajo SD (Fig. 3.7). En Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem esos aumentos en LD fueron 29 y 13 % respectivamente en relación de SD; mientras que en Q. cv. Kankolla los incrementos bajo LD fueron del 200 y 150 % en experimento del año 2018 y 2019 respectivamente en comparación de SD. En concordancia con el aumento de biomasa vegetativa, el peso del tallo principal en Q. cv. Baer fue un 36% mayor en las plantas expuestas bajo LD en comparación de SD; en cambio en A. cv. Don Guiem el incrementó (de un 66%) se registró en el peso del tallo de las ramificaciones en los LD en relación de los SD (Fig. 3.7). Por otro lado, en Q. cv. Kankolla en ambos años tanto el peso del tallo principal como del tallo de las ramificaciones se incrementaron en el orden del 160-180 y 150-220 % respectivamente bajo LD post-antesis en comparación de SD (Fig. 3.7). El número de nudos por plantas aumentó en 4-5 en Q. cv. Baer y Q. cv. Kankolla bajo LD post-antesis en comparación de SD en experimento del año 2018; en cambio en A. cv. Don Guiem del año 2018 y Q. cv. Kankolla del año 2019 no se observó diferencia entre tratamientos (Tabla suplementaria 3.4). El número de ramificaciones no tuvo cambios entre tratamiento fotoperiódicos en ninguno de las especies/cultivares en ambos

experimentos (Tabla suplementaria 3.4). A madurez de cosecha en ambos cv. de quínoa y tratamientos fotoperiódicos todas las hojas estuvieron abscindidas. La biomasa abscindida (*i.e.*, peso de hojas) durante post-antesis no varió significativamente en Q. cv. Baer; sin embargo, en Q. cv. Kankolla fue un 120 y 56 % mayor en plantas expuestas bajo LD en comparación de SD en el experimento del año 2018 y 2019 respectivamente (Fig.3.7). En A. cv. Don Guiem a MC persistieron hojas en el tallo principal y ramificaciones, y tanto el peso de esas hojas (4.5 y 4.8 g pl⁻¹ para SD y LD respectivamente) como el peso de las hojas abscindidas durante post-antesis no variaron entre tratamientos (Fig.3.7).

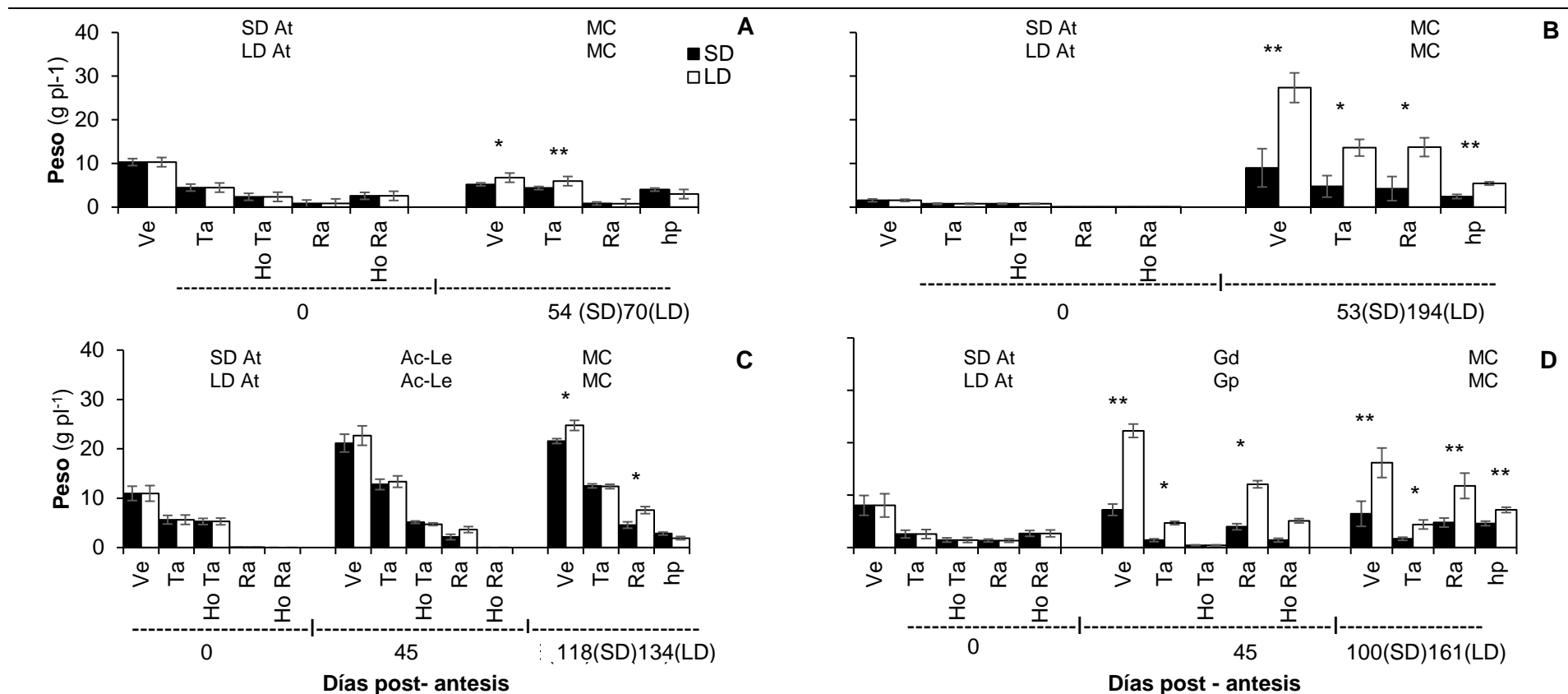


Figura 3.7. Biomasa vegetativa (Ve), de tallo principal (Ta) y de ramificaciones (Ra), hojas de tallo principal (HoTa) y ramificaciones (HoRa), y biomasa abscindida (hp) en plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv Don Guiem expuesto a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento de año 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en el experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla experimento del año 2019. Biomasa vegetativa incluye peso de tallos y hojas; biomasa abscindida incluye las hojas abscindidas. En la parte superior del gráfico se indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa), Duro (Du) y madurez de cosecha (MC) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente. Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (45 dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la MC por lo que difieren en los dpa en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a P < 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (l) representa el error estándar de la media.

3.3.4. Modificación de biomasa reproductiva durante la etapa post- antesis

En el muestreo realizado previo a madurez de cosecha a los 45 dpa en A. cv. Don Guiem (año 2018) y Q. cv. Kankolla (año 2019), no se registraron diferencias significativas de la biomasa reproductiva por planta (*i.e.*, incluye peso de granos y perigonios de la inflorescencia del tallo principal y de las ramificaciones) entre tratamientos (Fig.3.8). Sin embargo, en Q. cv. Kankolla el peso del perigonio por planta aumento significativamente un 170% bajo LD en comparación de SD; mientras que el peso individual de los granos por planta fue un 56 % significativamente menor bajo LD en relación de SD (Fig.3.8; Tabla suplementaria 3.5). Consistentemente en Q. cv. Kankolla el peso del perigonio asociado a ramificaciones (*i.e.*, perigonio de inflorescencias de ramificaciones) fue mayor bajo LD en comparación de SD, y el peso individual de granos asociadas a tallo principal (*i.e.*, peso de grano de inflorescencia de tallo principal) y asociados a ramificaciones (*i.e.*, peso de grano de inflorescencias de ramificaciones) fue menor bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.8; Tabla suplementaria 3.5).

A madurez de cosecha (MC) en Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem no existió diferencia en la biomasa reproductiva por planta entre tratamientos, en cambio en el Q. cv. Kankolla las plantas expuestas bajo LD tuvieron un aumento significativo de 140 y 90% en los años 2018 y 2019 respectivamente en comparación de las plantas expuestas bajo SD (Fig. 3.8). Consistentemente con el aumento de la biomasa reproductiva en Q. cv. Kankolla, el peso de los granos se incrementó un 60 % en ambos años, y el peso del perigonio un 320 y 150 % en 2018 y 2019 respectivamente en plantas expuestas bajo LD en relación de SD (Fig. 3.8). En A. cv. Don Guiem el peso de los granos por planta también fue mayor significativamente bajo LD en relación de SD. En todas las especies/cultivares el número de granos por planta aumentó significativamente 71-75 (año 2018-2019), 39 y 16 % en Q. cv. Kankolla, Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem respectivamente en plantas expuestas bajo LD en comparación de SD (Tabla 3.3). El peso individual de los granos en general no cambió entre los tratamientos, a excepción de Q. cv. Baer en el cual los granos bajo LD fueron un 28 % menos pesados que a SD (Tabla 3.3).

En la biomasa reproductiva asociada a inflorescencia de tallo principal se registraron cambios significativos entre tratamientos en ambos cvs. de quínoa. En el Q. cv. Baer las plantas expuestas bajo LD tuvieron un aumento de un 48% en el número de los granos con un peso individual de los mismos menor que en SD (Fig. 3.8; Tabla 3.3 y suplementaria 3.6). En Q. cv. Kankolla en ambos experimentos la biomasa reproductiva, el peso de granos y de perigonios asociados a la inflorescencia

principal se incrementaron bajo LD entre un 145-147, 58-123, 261-303% (dependiendo del año) respectivamente en comparación de SD (Fig. 3.8). También, el número de granos de inflorescencia principal aumentó entre 83-128% (año 2018-2019) en LD en relación de SD, sin modificación en el peso individual de los granos entre tratamientos (Tabla 3.3 y suplementaria 3.6). En la biomasa reproductiva asociada a las inflorescencias de las ramificaciones se observaron diferencias significativas en Q. cv. Kankolla y en A. cv. Don Guiem. En Q. cv. Kankolla (en experimentos de ambos años) la biomasa reproductiva, peso de los granos, peso de perigonio y número de granos de inflorescencia de ramificaciones fueron entre 86-130, 62-71, 250-340 y 58-64 % (dependiendo del año) respectivamente mayor en plantas expuestas bajo LD en comparación de SD (Fig. 3.8; Tabla 3.3). Por otro lado, en las inflorescencias de las ramificaciones del A.cv. Don Guiem también las plantas expuestas bajo LD aumentaron 65, 59, 76, 60 % la biomasa reproductiva, el peso de los granos, de los perigonios y número de granos respectivamente en relación de SD (Fig. 3.8; Tabla 3.3). En ninguna especie/cultivar existió diferencia en el peso individual de los granos de las ramificaciones entre tratamientos (Tabla suplementaria 3.6).

Tabla 3.3. Número de granos por planta, de inflorescencias de tallo principal y de ramificaciones, y peso individual de semillas a madurez de cosecha (MC) en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamientos de fotoperíodos de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en los experimentos de 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Número de granos por planta	Número de granos de tallo principal	Número de granos de ramificaciones	Peso individual de grano
Especie/ Cultivar		(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(mg Gn ⁻¹)
2018					
Q. Baer	SD	3738	1982	1756	2.50
	LD	5193 *	2938 *	2255 ns	1.80 *
Q. Kankolla	SD	3119	1095	2024	2.33
	LD	5336 ***	2008 *	3328 *	2.21 ns
A. D.Guiem	SD	15075	11449	3626	0.72
	LD	17542 *	11720 ns	5822 *	0.71 ns
2019					
Q. Kankolla	SD	6311	500	5811	1.82
	LD	11081 **	1142 **	9939 **	1.72 ns

El peso individual de grano por planta considera en conjunto la inflorescencia del tallo y las ramificaciones. Las siglas "pl" y "Gn" corresponden a planta y grano respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

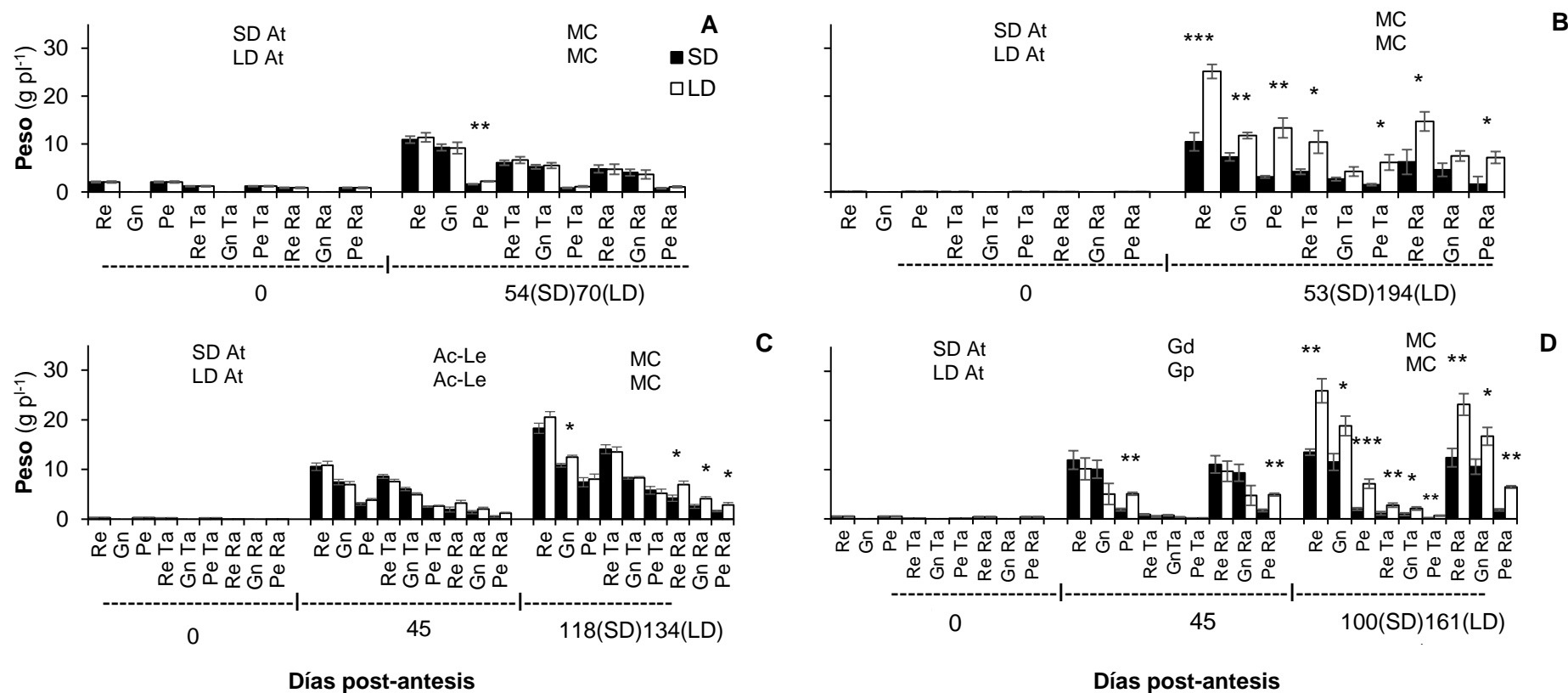


Figura 3.8. Biomasa reproductiva (Re), de grano (Gn) y de perigonio (Pe) en plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv Don Guiem expuesto a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en los experimentos de 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en el experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla en el experimento del año 2019. Re, Gn y Pe corresponden a inflorescencia de tallo principal y ramificaciones; ReTa, GnTa y PeTa corresponden a inflorescencia del tallo primario; ReRa, GnRa y PeRa corresponden a inflorescencias de ramificaciones. Biomasa reproductiva incluye biomasa granos y biomasa de perigonios. En la parte superior del gráfico se indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa), Duro (Du) y madurez de cosecha (MC) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente. Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (45 dpa) se realizaron a los mismos días post-antesis entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la MC por lo que difieren en los días post-antesis en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

3.3.5. Modificación de las tasas de crecimiento y partición de biomasa total durante post- antesis

En el muestreo previo a madurez de cosecha (MC) realizado a los 45 dpa en A. cv. Don Guiem (año 2018) y Q. cv. Kankolla (año 2019), no se registraron diferencias significativas de la biomasa total por planta (*i.e.*, conjunto de biomasa vegetativa y reproductiva) entre tratamientos (Fig. 3.9). La partición de biomasa en granos y en la biomasa reproductiva (*i.e.*, conjunto del peso de granos y perigonios) calculada con el índice de cosecha (HI) modificado no varió entre tratamientos en A. cv. Don Guiem (Tabla suplementaria 3.7). En cambio, en Q. cv. Kankolla la partición hacia granos y biomasa reproductiva fue significativamente menor en plantas expuestas bajo LD en relación de SD (Tabla suplementaria 3.7).

A madurez de cosecha (MC) en Q. cv. Baer no existió diferencia significativa en la biomasa total por planta entre tratamientos (Fig. 3.9). En cambio, en Q. cv. Kankolla bajo LD post-antesis la biomasa total por planta se incrementó un 169 y 111 % en el año 2018 y 2019 respectivamente en relación a los SD (Fig. 3.9). Consecuentemente con el incremento en la biomasa total por planta, también la biomasa total asociada a tallo y asociada a ramificaciones aumentó en los LD en comparación de los SD (Fig. 3.9). Por otro lado, en A. cv. Don Guiem la biomasa total por planta aumentó significativamente un 13% bajo LD en comparación de SD, y este aumento también se registró bajo LD en la biomasa total asociada a ramificaciones (del 65 %) (Fig. 3.9). La adición de la biomasa abscindida a la biomasa total aumentó la biomasa total entre un 4-25% por planta a madurez de cosecha en ambos tratamientos, aunque las diferencias estadísticas entre los mismos no variaron (Fig. 3.9). La partición de biomasa a granos y en biomasa reproductiva por planta no varió significativamente en los cultivares Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem (Tabla 3.4). Sin embargo, en Q. cv. Kankolla la partición de biomasa en granos, sin tener en cuenta o teniendo en cuenta la biomasa abscindida fue significativamente menor bajo LD en relación de SD. En este cv. en general la partición de biomasa en biomasa reproductiva no fue afectada por los tratamientos fotoperiódicos (Tabla 3.4).

En Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem no existió cambio significativo ni en la tasa de crecimiento absoluto (AGR) ni en la tasa de crecimiento relativo (RGR) durante la post-antesis entre tratamientos (Tabla 3.5 y suplementaria 3.8). Sin embargo, en Q. cv. Kankolla las tasas de crecimiento estuvieron modificadas entre tratamientos fotoperiódicos; en el experimento del año 2018, la RGR considerando y sin considerar la biomasa abscindida fue menor significativamente bajo LD en relación de SD (Tabla 3.5). En cambio, en el experimento del año 2019, en general la RGR no varió entre

tratamientos (a excepción del aumento de RGR entre los 45 dpa y MC), no obstante la AGR considerando y no considerando la biomasa abscindida durante toda la post-antesis y entre los subperíodos antesis - 45 dpa y 45 dpa- MC fueron significativamente mayores bajo LD en comparación de SD (Tabla 3.5 y suplementaria 3.8).

Tabla 3.4. Partición de biomasa en granos y en biomasa reproductiva a madurez de cosecha (MC) en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestos a tratamientos de fotoperíodos de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en los experimentos de 2018 y 2019.

Año Especie/ cultivar	Tratamiento	Peso de Granos/ biomasa total	Biomasa reproductiva/ Biomasa total	Peso de granos/ biomasa total + abscindida	Biomasa reproductiva/ biomasa total + abscindida
2018					
Q. Baer	SD	0.57	0.67	0.46	0.54
	LD	0.51	0.63	0.44	0.54
		ns	ns	ns	ns
Q.Kankolla	SD	0.38	0.54	0.33	0.48
	LD	0.24	0.49	0.22	0.44
		*	ns	*	ns
A. D.Guiem	SD	0.27	0.46	0.25	0.43
	LD	0.28	0.45	0.26	0.43
		ns	ns	ns	ns
2019					
Q.Kankolla	SD	0.58	0.69	0.46	0.54
	LD	0.46	0.63	0.38	0.53
		***	*	*	ns

La Biomasa total incluye biomasa reproductiva y vegetativa, biomasa reproductiva comprende el peso de granos y pericarpios, y biomasa abscindida al peso de hojas abscindidas. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

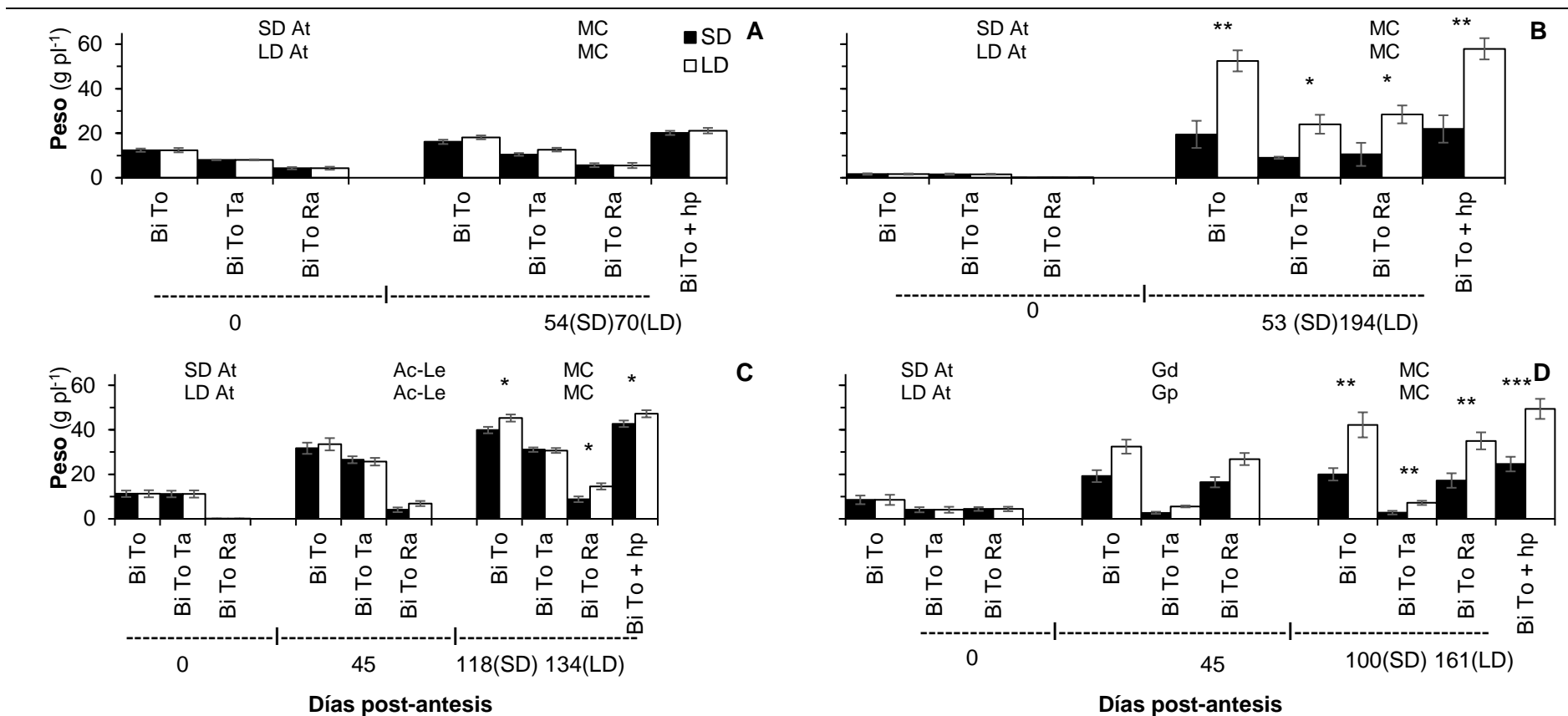


Figura 3.9. Biomasa total por planta (Bi To), de tallo principal (Bi To Ta), de ramificaciones (Bi To Ra) en plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv Don Guiem expuestos a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en los años 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en el experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla experimento del año 2019. La Biomasa total incluye peso de tallos, de hojas, de granos y pericarpios; Bi To + hp corresponde a biomasa total más la biomasa abscondida durante la post-antesis. En la parte superior del gráfico se indica los estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa), Duro (Du) y madurez de cosecha (MC) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente. Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (45 dpa) se realizaron a los mismos días post-antesis entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la MC por lo que difieren en los días post-antesis en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla 3.5. Tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de crecimiento absoluto (AGR) en el período comprendido entre antesis y madurez de cosecha (MC) en plantas de quínoa *cv. Baer*, *cv. Kankolla* y amaranto *cv. Don Guiem* expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento de año 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR + hp (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR + hp (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)
2018					
Q. Baer	SD	5.49	81.23	9.47	155.18
	LD	5.41	82.32	7.58	125.07
Q. Kankolla	SD	ns	ns	ns	ns
	LD	46.30	336.39	48.55	382.42
A. D.Guiem	SD	17.70	262.10	18.23	290.04
	LD	***	ns	***	ns
A. D.Guiem	SD	10.71	242.39	11.28	266.40
	LD	10.35	253.85	10.66	268.12
A. D.Guiem	SD	ns	ns	ns	ns
	LD	ns	ns	ns	ns
2019					
Q. Kankolla	SD	8.64	129.96	10.84	177.93
	LD	9.53	209.16	10.62	253.78
Q. Kankolla	SD	ns	*	ns	*
	LD	ns	*	ns	*

La RGR y AGR no considera la biomasa abscindida; la RGR + hp y AGR + hp considera la biomasa "abscindida" (hp). Biomasa "abscindida" incluye hojas abscindidas durante el periodo de post-antesis. La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

3. 4. DISCUSIÓN

3.4.1. Retardo del desarrollo reproductivo de los granos en días largos durante post- antesis

La exposición de plantas de quínoa y amaranto durante post- antesis bajo LD demoró el desarrollo reproductivo de los granos. Consecuentemente con la demora del desarrollo reproductivo de los granos el período comprendido entre antesis y madurez de cosecha se prolongó bajo LD. En quínoa y amaranto en condiciones semicontroladas se reportó que los LD desde la emergencia de las plantas (*i.e.*, previo a antesis) alargaban la duración de la post-antesis (Christiansen *et al.* 2010; Huang *et al.* 2020). También en estas condiciones experimentales en quínoa los LD desde la floración (*i.e.*, previo a antesis), prolongaban el período de floración y la etapa inicial del llenado de los granos (Bertero *et al.* 1999a; Bendevis *et al.* 2014a; Isobe *et al.* 2018). En forma contraria, en condiciones de campo las plantas de quínoa expuestas a fotoperíodos más largos y cálidos durante la post-floración disminuyeron la duración de esta etapa en relación de las plantas en fotoperíodos más cortos y fríos (Isobe *et al.* 2016). En los trabajos mencionados los efectos sobre la duración de la post-antesis por un lado no se pueden escindir del efecto de los LD previo a antesis y tampoco de

los efectos de la temperatura en post- antesis. Por otro lado, tampoco queda claro si la demora en los primeros estadios de desarrollo reproductivo se puede extrapolar a estadios más tardíos de la post-antesis. Por lo tanto, el efecto aislado de LD posterior a antesis demorando el desarrollo reproductivo de los granos y prolongando la duración de toda esta etapa en quínoa y amaranto presentado en este capítulo representa un aporte novedoso.

Tanto en quínoa como amaranto además de prolongarse toda la etapa de la post-antesis, la duración de los períodos de antesis, generación y llenado de granos, y maduración de granos se alargaron en las plantas expuestas bajo LD (Fig. suplementaria 3.2). Sin embargo, al comparar las especies se observa que en ambos cvs. de quínoa la duración más afectada (*i.e.*, de mayor prolongación) fue la maduración del grano, mientras que en amaranto todas las etapas estuvieron afectadas en forma similar; la anterior observación sugiere que en quínoa luego de la antesis podría existir una etapa más sensible al cambio de fotoperíodo, como se registró previo a la antesis (Bertero *et al.* 1999 a), mientras que en amaranto la sensibilidad sería similar durante toda la post-antesis. Por último, en quínoa los cvs. adaptados a menores latitudes y mayores altitudes (ecotipo del altiplano, *sensu* Tapia *et al.* 1979) son más sensibles a la inducción floral por parte del fotoperíodo que los cvs. adaptados a mayores latitudes y menores altitudes (ecotipo de nivel del mar) (Bertero *et al.* 1999b). Por lo tanto, en condiciones semicontroladas donde solo varió el fotoperíodo (*i.e.*, mismas altitudes), se registró que los LD alargan más la duración de la etapa de pre-floración en los ecotipos del altiplano que en los ecotipos de nivel de mar (Bertero *et al.* 1999b). En este capítulo se registró que en Q. cv. Kankolla (ecotipo del altiplano) adaptada a lat. 12 ° Sur la duración de la post-antesis bajo LD se prolongó mucho más que en Q. cv. Baer (ecotipo nivel del mar) adaptado a Lat. 38 ° Sur. En su conjunto, los anteriores resultados sugieren, que las diferentes sensibilidades al fotoperíodo (según el cv.) previo a floración, persisten posterior a la antesis.

3.4.2. Demora de la senescencia foliar en día largos durante post-antesis

En quínoa y amaranto la exposición bajo LD post- antesis demoró la senescencia foliar en relación de SD. La demora de la senescencia foliar por un lado se vio evidenciada por la menor degradación de las clorofilas en plantas expuestas bajo LD. En Q. cv. Kankolla la disminución en la degradación de las clorofilas se explica a partir de la menor tasa de avance de la degradación de las clorofilas foliares; mientras que en A. cv. Don Guiem se asoció tanto a la menor tasa de avance de la degradación de las clorofilas como a un inicio tardío de la degradación de las mismas

bajo LD. Por otro lado, la exposición bajo LD durante post-antesis demoró la abscisión foliar tanto en quínoas como amaranto. Otro síntoma característico del avance de la senescencia foliar es la disminución de la asimilación neta de dióxido de carbono (An) (Wittenbach 1982,1983; Crafts-Brandner & Egli 1987a, b; Guiamet *et al.* 1990; He *et al.* 2002; Bascuñán-Godoy *et al.* 2018b). Bajo LD durante la post-antesis en plantas de quínoa y amaranto persistió durante más tiempo la An que en plantas expuestas bajo SD (*i.e.*, la An nula se registró antes bajo SD). En Q. cv. Baer la mayor persistencia en LD puede vincularse al inicio tardío del avance de la disminución de la An, mientras que en Q. cv. Kankolla y A. cv. Don Guiem a una tasa de avance de disminución de la An menor que en SD. La demora en la degradación de las clorofilas en conjunto con la persistencia en la An, sumado a la correlación significativa entre la tasa de avance de degradación de clorofilas y la tasa de disminución de An indican que la demora de la senescencia foliar bajo LD fue del tipo funcional (*i.e.*, no cosmético) (Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Morita *et al.* 2009). Este resultado, es coincidente con la demora del tipo funcional de la senescencia foliar bajo LD en post-antesis en otra especie de “día corto” como lo es soja, registrado en el Cap. II de la presente tesis.

En quínoa y amaranto la demora de la senescencia foliar bajo LD post-antesis fue acompañada por el retraso en el desarrollo reproductivo de los granos. En diferentes especies de “día corto” el desarrollo de los granos se asocia a la progresión de la senescencia foliar, vinculado sobre todo a la removilización del nitrógeno (N) desde las hojas hacia los granos en crecimiento (Sinclair & de Wit 1976; Egli *et al.* 1978; Warembourg *et al.* 1982; Martignone *et al.* 1987; Tabuchi *et al.* 2007; van Oosterom *et al.* 2010; Wu *et al.* 2018). Tanto en cv. de quínoa sensibles o neutros al fotoperíodo para la inducción floral, como en otros cv. de *A. cruentus* (*i.e.*, misma especie que A. cv. Don Guiem) y en *A. hypochondriacus* x *A. hybridus* (*i.e.*, híbrido con especies de cercanía filogenética a *A. cruentus*) se reportó la removilización de N desde las hojas y tallo hacia los granos durante el desarrollo de los mismos (Aufhammer *et al.* 1995; Bendevis *et al.* 2014b). Consecuentemente en quínoa bajo fotoperíodo natural frente a una mayor disponibilidad de N (*i.e.*, por fertilización) se retrasó la degradación de clorofilas foliares y la disminución de An posterior a la floración (Bascuñán-Godoy *et al.* 2018a, b). También en *Amaranthus retroflexus* L. y *A. powellii* S. Watson, el aumento de la concentración de N en las hojas se correlacionó positivamente con el aumento de las clorofilas foliares y de la An (Sage & Percy 1987; Sage *et al.* 1987; Hunt *et al.* 1985). Los anteriores trabajos y los resultados de este capítulo sugieren que la demora de la senescencia bajo LD post-antesis, podría ser producto de un retraso en la removilización de nitrógeno a los granos producido por el retardo en su desarrollo. Este mecanismo sería un efecto indirecto del

fotoperíodo sobre la senescencia foliar, *i.e.*, el efecto del LD post-antesis estaría mediado por la demora en el desarrollo reproductivo de los granos. En Q. cv. Kankolla el efecto indirecto del fotoperíodo parece explicar gran parte de la demora de la senescencia foliar, ya que la misma se comenzó a evidenciar en el momento que fue clara la diferencia en el desarrollo reproductivo de los granos (Fig. 3.3; Fig. suplementaria 3.2, 3.3). Sin embargo, en Q. cv. Baer y A. cv. Don Guiem algunos síntomas de la demora de la senescencia foliar, como una menor degradación de las clorofilas foliares en algunas hojas (Fig. 3.1, 3.2, 3.4) y una mayor An (Fig. 3.4), se comenzaron a registrar bajo LD previo al retraso del desarrollo reproductivo de los granos (Fig. suplementaria 3.2). Estos resultados sugieren que los LD en post-antesis también podrían estar participando en la demora de la senescencia de las hojas de forma directa, *i.e.*, no mediado por el desarrollo reproductivo de los granos. Un enfoque experimental similar al realizado en el capítulo V, *i.e.*, remoción de frutos, sería necesario en quínoa y amaranto para profundizar en el estudio de esta posible respuesta.

3.4.3. Modificación en la producción de biomasa en días largos durante post-antesis

A madurez de cosecha (MC) las plantas de quínoa y amaranto expuestas bajo LD post-antesis produjeron más biomasa vegetativa que las plantas expuestas bajo SD. En Q. cv. Kankolla el aumento de la biomasa vegetativa se correspondió al incremento bajo LD del peso del tallo principal, del tallo de las ramificaciones y de las hojas de ambos tipos de tallo (*i.e.*, las hojas a MC dada la abscisión total del canopeo se corresponden a las hojas abscindidas). En cambio, el aumento en la biomasa vegetativa en Q. cv. Baer se vinculó principalmente con el aumento en el peso del tallo principal, mientras que en A. cv. Don Guiem con el mayor peso del tallo de las ramificaciones en los LD. En A. *retroflexus*, la exposición bajo LD posterior a la floración, demoró el desarrollo reproductivo en las ramificaciones (*i.e.*, aparición de las inflorescencias), lo que prolongó el crecimiento vegetativo generando que los tallos de ramificaciones sean más largos (Koller *et al.* 1977b). También en soja los LD post-antesis retardaron la transición de los meristemas (*i.e.*, de aquellos no diferenciados) desde un estado vegetativo a uno reproductivo (Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988) o incluso existió una reversión de los meristemas desde el estado reproductivo al vegetativo (Washburn & Thomas 2000; Han *et al.*, 2006), que se asoció con el alargamiento del crecimiento vegetativo y consecuente incremento de la biomasa vegetativa (Guamet & Nakayama 1984a; Caffaro & Nakayama 1988; Kantolic & Slafer 2001). Considerados estos datos en su conjunto, la demora en el desarrollo

reproductivo (sección 3.4.1) y el aumento de la biomasa vegetativa bajo LD post-antesis en quínoa y amaranto, podría estar indicando una transición demorada de los meristemas de un estado vegetativo a uno reproductivo, lo que posibilita un mayor período de crecimiento vegetativo.

A madurez de cosecha en plantas de Q. cv. Kankolla expuestas bajo LD en post-antesis aumentó la producción de la biomasa de perigonios, granos, y consecuentemente de la biomasa reproductiva por planta. En cambio, bajo LD post-antesis solo se incrementó la biomasa de granos en A. cv. Don Guiem y la biomasa de perigonios en Q. cv. Baer por planta. Tanto en quínoa como amarantos los LD post-antesis incrementaron el número de granos por planta, sin registrarse en general un efecto del fotoperíodo sobre el peso individual de los mismos (a excepción del menor peso individual de los granos en LD en Q. cv. Baer). Por lo tanto, el aumento en el peso de los granos por planta bajo LD en Q. cv. Kankolla y A. cv. Don Guiem se debió más al aumento en el número de granos generados durante post-antesis que a un cambio en el peso individual de los granos. Este efecto de los LD en post-antesis es consistente con los reportes en quínoa y amaranto en fotoperíodos naturales, donde el aumento del peso de los granos por planta, se asoció más con el incremento en el número de los granos que con el peso individual de los mismos (Bertero & Ruiz 2008; Rivelli *et al.* 2008; Curti *et al.* 2014, Lesjak & Calderini 2017; Zubillaga *et al.* 2019; Tovar *et al.* 2020, Gómez *et al.* 2021). Finalmente, en relación a la generación del número de granos, en condiciones de campo donde varió en conjunto el fotoperíodo y la temperatura, a días más largos y cálidos se incrementó el número de granos en relación a días más cortos y fríos, y este efecto fue más pronunciado (*i.e.*, aumento más el número de granos) en los ecotipos de nivel del mar que en los ecotipos del altiplano (Isobe *et al.* 2016). En este capítulo, donde se aisló el efecto del fotoperíodo (*i.e.*, temperatura similar entre tratamientos) también bajo LD post-antesis se reportaron incrementos en el número de granos por planta en ambos ecotipos; sin embargo, en Q. cv. Kankolla (ecotipo del altiplano) el efecto fue más pronunciado que en Q. cv. Baer (ecotipo nivel del mar). Este último resultado sugiere una mayor sensibilidad al fotoperíodo (en relación a la generación del número de granos) en Q. cv. Kankolla (adaptada a bajas latitudes) que en Q. cv. Baer (adaptada a altas latitudes); además concuerda con la mayor sensibilidad al fotoperíodo (determinada por la duración de una determinada etapa fenológica) registrada previo a floración (Bertero *et al.* 1999b) y posterior a antesis (sección 4.3.1) en los ecotipos adaptados a bajas latitudes en relación a los adaptados a altas latitudes.

La producción de biomasa total a madurez de cosecha en Q. cv. Kankolla y A. cv. Don Guiem aumentó ante la exposición bajo LD en post-antesis. El aumento de la

biomasa bajo LD post-antesis puede interpretarse a partir de la demora en el desarrollo reproductivo de los granos lo que incrementa la cantidad de días que las plantas producen biomasa. Esa mayor duración de la post-antesis en LD expone a las plantas a una mayor cantidad de radiación fotosintéticamente activa (PAR) incidente acumulada durante esta etapa. Una mayor PAR incidente acumulado junto con la mayor persistencia del canopeo (*i.e.*, senescencia demorada) posibilitaría una mayor PAR acumulada interceptado durante este período y el consecuente aumento en la producción de biomasa total. En diferentes especies de “día corto” se ha documentado la relación entre una mayor PAR acumulada interceptado en un período y el aumento en la producción de biomasa (Andrade 1995; Ruiz & Bertero 2008; Nico *et al.* 2015). Además de una mayor cantidad de PAR acumulada, bajo LD post- antesis existió una demora funcional de la senescencia foliar; esto implica que esa PAR “adicional” (*i.e.*, en relación de SD) es utilizada en la mayor asimilación de carbono integrada en el tiempo, lo que también explica el incremento de la biomasa total bajo LD post-antesis. Este efecto del LD en el aumento de la biomasa a través de la demora del desarrollo reproductivo de los granos es un efecto indirecto del fotoperíodo. Por otro lado, si el incremento de biomasa bajo LD se pudiera explicar solo por la demora del desarrollo reproductivo de los granos y la consecuente prolongación de la etapa post-antesis (*i.e.*, efecto indirecto del fotoperíodo), las tasas de producción de biomasa diarias no variarían significativamente entre tratamientos, sino que simplemente variaría la cantidad de días en que se produjo biomasa. En Q. cv. Kankolla, la tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de crecimiento absoluto (AGR) dos estimadores de la producción de biomasa diaria variaron entre los tratamientos. Bajo LD en el experimento del año 2018 la RGR disminuyó considerando toda la post-antesis; mientras que en el experimento del año 2019 la AGR aumentó al considerar tanto la totalidad de la duración de la post-antesis como en subperíodos de la misma. Si bien esa variación de las tasas de producción de biomasa diaria entre años escapa de los objetivos de este capítulo, parece claro que al menos en Q. cv. Kankolla el aumento de la biomasa total no parece explicarse solo por la prolongación de la etapa post-antesis (*i.e.*, más cantidad de días acumulando biomasa). Esto sugiere que el fotoperíodo además de un efecto indirecto sobre el aumento de la biomasa, tendría un efecto directo, *i.e.*, no mediado por el desarrollo reproductivo de los granos. En soja, la otra especie de “día corto” utilizada en esta tesis, se registraron resultados similares en relación a un efecto indirecto y directo del fotoperíodo en la producción de la biomasa total durante post-antesis (ver Cap. II y V).

3. 5. CONCLUSIONES

Los LD aplicados en la etapa posterior a antesis en quínoa y amaranto retrasan el desarrollo reproductivo de los granos prolongando la duración de esta etapa. Acompañando la mayor duración del período de post-antesis por un lado existe una demora funcional de la senescencia foliar asociada a la demora en el desarrollo reproductivo, *i.e.*, un efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia; sin embargo, algunos síntomas de la demora de la senescencia no se asociaron únicamente a la demora del desarrollo reproductivo de los granos, lo que sugeriría también un efecto directo del fotoperíodo sobre la senescencia foliar, efecto que es necesario seguir estudiando. Por otro lado, bajo LD el incremento de la biomasa se asocia a un mayor período de producción de biomasa producto de la demora del desarrollo reproductivo de los granos (efecto indirecto), y también al menos en uno de los cv. de quínoa a una modificación en la tasa de producción diaria de biomasa (efecto directo).

RETARDO FUNCIONAL DE LA SENESCENCIA FOLIAR Y AUMENTO DE LA BIOMASA EN LOS CEREALES DE INVIERNO TRIGO, CEBADA, AVENA Y CENTENO EXPUESTOS A DÍA CORTO DURANTE EL PERÍODO DE POST-ANTESIS.

4.1. INTRODUCCIÓN

Los cereales de invierno trigo (*Triticum aestivum* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.) avena (*Avena sativa* L.) y centeno (*Secale cereale* L.) en conjunto producen 952.2 millones de toneladas año⁻¹ de granos¹ en el mundo (FAO STAT 2020); a razón de 3.1- 3.8 kcal g⁻¹ de grano (USDA 2021; Welch 2006, 2011) y un requerimiento energético de 2240-2880 kcal día⁻¹ en adultos sanos (FAO/OMS/UNU 2001) esta producción equivale a la energía necesaria para cubrir las necesidades alimentarias de 2.9-4.5 miles de millones de personas año⁻¹. Esto marca la importancia de estos cereales en la alimentación actual y también advierte sobre la necesidad de comprender el funcionamiento de estos cultivos ante cambios en el ambiente.

Entre los principales factores ambientales que modulan el crecimiento y desarrollo de los cereales de invierno están la temperatura y el fotoperíodo. La temperatura por un lado modifica el ritmo de crecimiento en el ciclo de la planta (Klinck & Sim 1977; Hammes & Marshall 1980; Porter *et al.* 1987; Savin & Nicolas 1995; Kernich & Halloran 1996; Peltonen-Sainio *et al.* 2011), y por otro lado existen cultivares en estas especies que necesitan un período de bajas temperaturas para volver competente al ápice para la floración, requerimiento conocido como vernalización (Chouard 1960; Coffman & Fray 1961; Hartman 1964; Manupeerapan *et al.* 1992; Trevaskis 2010). En relación a la respuesta de la floración y vinculado con el requerimiento fotoperiódico, estos cereales son especies de “día largo”, ya que es necesario un número de días superando un determinado umbral fotoperiódico (*i.e.*, fotoperíodo crítico) para que la floración no se retrase (*spp.* “día largo” cuantitativas) o suceda (*spp.* “día largo” cualitativas) (Aspinall 1966; Sampson & Burrows 1972; Thomas & Vince Prue 1997b; Alqudah *et al.* 2014; Kippes *et al.* 2020).

En estos cereales la mayoría de los estudios se han focalizado en comprender el efecto del fotoperíodo previo a antesis, posiblemente porque el número de granos, el mayor determinante del rendimiento en estas especies (Chmielewski & Kohn 2000; Slafer *et al.* 2014; Mahadevan *et al.* 2016; Alvarez Prado *et al.* 2017), queda determinado en esta etapa (Fischer 1985; Arisnabarreta & Miralles 2008a; Mahadevan *et al.* 2016; Kottmann *et al.* 2016). Se ha reportado que los fotoperíodos no inductivos para la inducción floral para estas especies (*i.e.*, días cortos, SD) alargan la duración de la etapa de pre-antesis (Hammes & Marshall 1980; Fowler 1983; Bleken & Skejelvag 1986; Angus *et al.* 1981; Slafer & Rawson 1995; Peltonen-

¹ En estas tesis en los cereales de invierno se denomina “grano” a la fusión entre la semilla y el pericarpio del fruto.

Sainio *et al.* 2003; Alzueta *et al.* 2014; Pérez-Giamarco *et al.* 2018). Asociado a la prolongación de la etapa pre-antesis bajo SD, en trigo y cebada aumentó el número de macollos por planta (Miralles & Richard 2000; Gonzalez *et al.* 2003a), el número de hojas en el tallo principal (Guitard 1960; Allison & Daynard 1976; Slafer & Rawson 1995; Miralles & Richard 2000; Miralles *et al.* 2007; Pérez-Giamarco *et al.* 2018), el número de espiguillas (Halse & Weir 1970; Allison & Daynard 1976; Miralles *et al.* 2000; Pérez-Giamarco *et al.* 2018), de flores fértiles por espiga (Miralles *et al.* 2000; Gonzalez *et al.* 2003a, b, 2005a, b; Pérez-Giamarco *et al.* 2019) y granos (Gonzalez *et al.* 2005a). Por otro lado, en avena y centeno la exposición bajo SD en pre-antesis aumentó la biomasa aérea (Klinck & Sim 1977; Kantar & Porter 2014). En avena también se observó un aumento en el número de las panículas hasta antesis que se correspondió con un aumento del rendimiento (Klinck & Sim 1977).

En estas especies la percepción del fotoperíodo posterior a antesis y los cambios que el mismo puede producir en esta etapa han recibido menos atención que los estudios en pre-antesis; además los resultados en post-antesis son disímiles en los distintos trabajos publicados. Por un lado, en ensayos en condiciones de campo, donde a partir de diferentes fechas de siembra se imponen SD en el período post-antesis (*i.e.*, días más cortos que en fechas sucesivas de siembra), pero asociados con menores temperaturas (otoño-primavera), la tasa de desarrollo disminuyó lo que generó una mayor duración de las etapas posteriores a antesis (Marcello & Single 1971; Angus *et al.* 1981; Colville & Frey 1986; Porter *et al.* 1987; Chmielewsky & Kohn 2000; Alzueta *et al.* 2014). La prolongación de la etapa post-antesis se asoció mayor o totalmente a la influencia de la temperatura (*i.e.*, baja temperatura) y no a un efecto del fotoperíodo (*i.e.*, SD) (Marcello & Single 1971; Angus *et al.* 1981; Porter *et al.* 1987; Chmielewsky & Kohn 2000; Alzueta *et al.* 2014). Por otro lado, en condiciones semicontroladas, donde se modificó exclusivamente el fotoperíodo, sí se registraron algunos efectos del mismo en la post-antesis. En trigo se ha reportado que los SD post-antesis aumentaron la duración de esta etapa y disminuyen la biomasa vegetativa y reproductiva (Thorne *et al.* 1968). En forma contraria en trigo, Han *et al.* (2005) no observaron efecto en la duración de la post-floración ante la exposición en SD en este período. En cebada los SD post-antesis alargan la duración de esta etapa, sin modificar la biomasa reproductiva en el tallo principal, en cambio disminuyó el número de macollos que generaron espigas (*i.e.*, incrementó el número de macollos estériles), y en aquellos que la produjeron disminuyó el número y peso de los granos (Guitard 1960). Finalmente, en avena los SD post- antesis aumentaron la duración de este período y de la biomasa aérea, en conjunto con una disminución en el número de panículas y semillas por planta y un incremento el peso individual de los granos (Klinck & Sim 1977). Por lo tanto, a partir de los resultados previamente mencionados no se debería descartar un posible efecto del fotoperíodo posterior a la antesis,

y sería pertinente poder establecer la influencia de los SD post-antesis sobre el desarrollo y la producción de biomasa en esta etapa.

El llenado de los granos en estos cereales depende de la removilización de asimilados acumulados en la biomasa en pre-antesis (Peterson *et al.* 1975; Wych *et al.* 1982; Bonnet & Incoll 1992; Ellen 1993a, b; Gebbing *et al.* 1998) y de la actividad fotosintética principalmente de hojas pero también de tallos y espigas o panoja durante la post-antesis (Jennings & Shibles 1968; Evans & Rawson 1970; Johnson *et al.* 1975; Takeda & Udagawa 1976; Blum 1985; Bort *et al.* 1994; Tambussi *et al.* 2007, 2021; Maydup *et al.* 2010; Serrago *et al.* 2013). Junto con el llenado de los granos avanza la senescencia foliar, evidenciada por la degradación de las clorofilas y/o la disminución de la asimilación de dióxido de carbono (Feller & Erismann 1978; Feller 1979; Evans 1983; Uprety & Sirohi 1987; Jukanti & Fisher 2008; Jukanti *et al.* 2008; Gaju *et al.* 2014; Gregersen *et al.* 2008; Distelfeld *et al.* 2014; Zhao *et al.* 2021). La anterior asociación permite suponer que una demora en el desarrollo de los granos (o su ausencia) retardaría la senescencia foliar; sin embargo, no siempre se observó esta relación. En trigo no se registró modificación de la duración del área foliar verde y área total verde (conjunto de órganos con clorofila) en el tallo principal ante la remoción de los granos (Slafer & Miralles 1992; Slafer & Savin 1994). En forma contraria, en otros trabajos se observó que los granos ejercieron un efecto sobre la senescencia foliar, ya que la remoción de los mismos (Feller *et al.* 1979; Biswas & Mandal 1988) o su ausencia (cultivares estériles) (Khana-Chopra & Shina 1987; Semwal & Khanna-Chopra 2018) demoraron la degradación de las clorofilas en las hojas. Por otro lado, la remoción de los granos no afectó la asimilación de dióxido de carbono (Blum *et al.* 1988; Labraña & Araus 1991) o incluso la misma disminuyó (King *et al.* 1967; Rawson *et al.* 1976; Blum *et al.* 1988). En cebada la extracción de las flores aumentó la duración del área verde junto a una disminución inicial de la asimilación de dióxido de carbono en la hoja bandera; aunque en estadios posteriores la asimilación de dióxido se recuperó y se incrementó a valores por encima de las plantas donde las flores no fueron removidas (Nosberger & Thorne 1965). Por otro lado, en esta especie la remoción de los granos no afectó la duración del área foliar verde (Dreccer *et al.* 1997). En avena la remoción del 50-75 % de las espiguillas aumentó ligeramente la asimilación de dióxido de carbono en la hoja bandera (Criswel & Shide 1972). Por último, existe un solo reporte (en mi conocimiento) en el cual bajo SD en post-antesis en plantas de trigo se demoró el desarrollo de los granos junto a una mayor duración de la superficie foliar (Thorne *et al.* 1968). Por lo tanto, en los trabajos anteriores no queda claro si el desarrollo del grano afecta la senescencia foliar y sí el fotoperíodo en post antesis podría modificar alguno de estos procesos.

Finalmente, posterior a la antesis en una misma planta conviven el tallo principal y macollos con diferentes estados de desarrollo y jerarquía (Aspinall 1961, 1966; Aspinall & Paleg 1964; Friend 1965; Laude *et al.* 1967; Thorne *et al.* 1968; Power & Alessi 1987; Gu &

Marshall 1988). El estado fenológico del tallo principal y macollos determina la percepción y sensibilidad a cambios en el fotoperíodo (Klinck & Sim 1976; Slafer & Rawson 1995; Miralles & Richard 2000; Miralles *et al.* 2000; Gonzales *et al.* 2003a; Alqudah *et al.* 2014). En trigo los SD post-antesis disminuyeron el peso de tallo, números y peso de granos tanto en tallo principal (*i.e.*, desarrollo más avanzado) como en macollos (*i.e.*, desarrollo menos avanzado) (Thorne *et al.* 1968). En cambio, en cebada los SD post-antesis no tuvieron efecto en la biomasa reproductiva del tallo principal, sin embargo, disminuyeron la misma en los macollos (Guitard 1960). A partir de los anteriores resultados sería relevante indagar si los cambios en el fotoperíodo afectarían de igual forma a macollos con diferente estado de desarrollo existentes en una misma planta.

De acuerdo a lo expuesto previamente, los objetivos primarios de este capítulo fueron determinar si la exposición bajo SD en post-antesis en trigo, cebada, avena y centeno afectan: 1 - El desarrollo reproductivo en post-antesis; 2 - el progreso de la senescencia foliar; 3 - La producción de biomasa vegetativa y reproductiva. Como objetivo secundario se buscó establecer si los posibles cambios bajo SD post-antesis se observan en tallo principal y en macollos con diferentes estadios de desarrollo y jerarquía.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Condiciones de cultivo y cultivares

Se realizaron tres experimentos en condiciones semicontroladas de invernáculo en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE - Facultad de Ciencias naturales y Museo, Facultad de Ciencias Agrarias y forestales, Universidad Nacional de La Plata – CONICET; Argentina, 34° 55' S, 57° 58' O), durante los años 2017, 2018 y 2019. Las especies utilizadas fueron “trigo panadero” (*Triticum aestivum* L.) cultivar BIONTA 3003 (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA), “cebada” (*Hordeum vulgare* L.) cv. Scarlett (CARGILL S.A), “centeno” (*Secale cereale* L.) cv. Don Ewald (INTA) y “avena” (*Avena sativa* L.) cv. Bonaerense INTA Mana (INTA); se eligieron estos cultivares por ser de uso habitual en esta región. En el experimento del año 2017 se utilizaron las especies de trigo y cebada, mientras que en el 2018 se analizaron todas las especies y en el 2019 únicamente el trigo.

Para la germinación los granos se embebieron con agua destilada en vermiculita y permanecieron 15 días en una cámara de frío (6-7 °C) e iluminada por 24 h. La incubación a baja temperatura se utilizó para asegurar cualquier posible requisito de vernalización en los cultivares, y la iluminación continua para evitar posibles efectos de etiolación en las plántulas. Una vez ocurrida la germinación visible (*i.e.*, emergencia de la radícula) se las traspasó a invernáculo, donde se trasplantaron en contenedores de 7 L que contenían un sustrato de tierra negra. Este traspaso a invernáculo se realizó en abril, febrero - marzo y febrero en los

experimentos de los años 2017, 2018 y 2019 respectivamente. Cada contenedor tuvo una única planta; los contenedores fueron agrupados en bloques y rodeados con contenedores con plantas similares con el objetivo de reducir los efectos de borde. El sustrato se fertilizó con 10 g pl^{-1} de una mezcla granulada de nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, magnesio y trazas de boro, hierro, zinc y manganeso (Nitrofull Emergence, BERTINAT, Argentina) al momento del pasaje al invernáculo y en la antesis de cada especie. Durante todo el ensayo el riego fue realizado cada 1-3 días dependiendo de la demanda evapotranspiratoria. La temperatura del invernáculo fue controlada (dentro de cierto rango) durante los 3 experimentos y en promedio fue de $19.5 \pm 4.1 / 15.7 \pm 2.5 \text{ }^\circ\text{C}$ diurna/ nocturna.

4.2.2. Tratamientos fotoperiódicos

Las plantas desde el pasaje a invernáculo hasta su antesis se expusieron a un fotoperíodo extendido para promover la floración. Una vez alcanzada la antesis comenzaron los tratamientos fotoperiódicos post-antesis, para lo cual las plantas se dividieron en dos poblaciones (bloques) que se expusieron alternativamente a diferentes fotoperíodos. Una de las poblaciones fue sometida a fotoperíodo extendido (inductivo, tratamiento de “día largo”, LD) y la otra población a un fotoperíodo natural (no inductivo, tratamiento de “día corto”, SD). El tratamiento LD se generó agregando al fotoperíodo natural una fuente de luz artificial durante 4 h al momento de la puesta de sol. En forma complementaria a los tratamientos fotoperiódicos descritos, se realizaron cuatro experimentos (*i.e.*, uno por cada especie), en el cual las plantas fueron mantenidas en forma continua durante pre-antesis y post- antesis bajo SD (SDSD) o LD (LDLD), corroborando que los cultivares utilizados son sensibles y responden a cambios en el fotoperíodo (Tabla Suplementaria 4.1).

La fuente de luz artificial fue un tubo de diodo emisor de luz (LED) ubicado a 1.6 m sobre el nivel del suelo, cuya emisión de radiación fotosintéticamente activa (PAR) alcanzaba un sector comprendido entre los 0.23 m (borde superior de los contenedores) y 1.3 m del nivel del suelo con una densidad de flujo fotónico fotosintético (PPDF) de $1 - 4 \text{ } \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (sensor PAR lineal BAR-RAD 100 - Cavadevices, Argentina). Estos valores de PPDF emitidos por las lámparas están por debajo de los rangos de punto de compensación lumínico reportados en trigo ($52.6 - 75.1 \text{ } \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Gerbaud & André 1980; Polley *et al.* 1993), cebada ($9.6 - 32.6 \text{ } \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Arenas Corraliza *et al.* 2019; Hu *et al.* 2021), avena ($11.2 - 42.1 \text{ } \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Anderson *et al.* 1979; Lin *et al.* 2013) y centeno ($5.8 - 69.3 \text{ } \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Baron *et al.* 1996; Deckmyn & Impems 1997), por lo que no agregaron radiación en términos fotosintéticos. La relación roja/rojo lejana (fluencia 660/fluencia 730 nm) de la fuente de luz artificial fue de 1.4 (USB650, Red Tide, Ocean Optics, Estados Unidos), por lo que fue similar (levemente superior) a la de la luz solar directa.

4.2.3. Determinaciones ambientales y fenológicas

A lo largo de los experimentos el fotoperíodo se estableció como la diferencia entre la salida y puesta del sol (sin tener en cuenta los horarios de los crepúsculos matutino y vespertino) a partir de los datos del Servicio de Hidrografía Naval Argentina (www.hidro.gov.ar). La radiación solar global incidente se midió a partir de una estación meteorológica (Vantage Pro2, Davis Instruments, Estados Unidos) ubicada a 500 m del invernáculo, cada 5 minutos y se integró a lo largo del día (Departamento de Sismología e Información Meteorológica, Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas, Universidad Nacional de La Plata). La radiación solar global incidente se transformó a PAR mediante el factor de conversión 0.48 (Gosse *et al.* 1986; Andrade 1995; Ojeda *et al.* 2018). El PAR acumulado (PARac) durante la etapa de post- antesis fue calculado como la suma del PAR incidente diario. En el cálculo del PAR acumulado diario no se tuvo en cuenta el PAR agregado por las lámparas por ser menor que el punto de compensación lumínico tal como fue descrito anteriormente (Sección 4.2.2). Si bien el PAR incidente, es una medición que no estima la interceptación *per se*, puede ser tomada como una medida indicativa de la radiación a la que estuvieron sometidas las plantas durante el período post- antesis (como en Hipps *et al.* 1983; Andrade 1995).

La determinación fenológica se realizó en las cuatro especies según Zadoks *et al.* (1974) (Tabla 4.1). En los 3 años de experimento cada estado fenológico a nivel de planta entera se estableció cuando más del 50 % de los ejes² (*i.e.*, tallo principal y macollos) que la componen tenía un determinado estado ontogénico. Con la misma lógica, en el experimento del año 2018, el estado fenológico de los “ejes pre-tratamientos” que incluye tallo principal y macollos con espigas visibles al inicio del tratamiento, y de los “ejes post-tratamiento” que incluye los macollos con espiga visible posterior al inicio del tratamiento, se determinó cuando más de 50% de esos ejes tenían un determinado estado ontogénico. El estadio fenológico de los “ejes pre-tratamientos” correspondió a antesis (*i.e.*, > 50 % de espigas en antesis) al inicio del tratamiento. En el experimento del año 2017 la fenología se determinó al inicio de los tratamientos fotoperiódicos (antesis, Z 60) y a los 79 y 66 días post- antesis (dpa) en trigo y cebada respectivamente, cuando las plantas expuestas bajo LD alcanzaron la madurez de cosecha (Z 94). En cambio, en los experimentos de los años 2018 y 2019 la fenología se determinó periódicamente (5-7 días) desde el inicio de los tratamientos hasta que se alcanzó la madurez de cosecha en cada tratamiento fotoperiódico. La duración de las etapas fenológicas se expresó en días calendarios sin corrección por la temperatura, ya que la misma

² Conjunto de tallo, hojas y espiga o panícula; la presencia de las espigas o panículas depende del estado fenológico del eje.

fue constante (dentro del rango descrito en sección 4.2.1) a lo largo de la etapa de post-antesis.

Tabla 4.1. *Escala fenológica posterior a emergencia de espiga o panícula adaptada a partir de Zadoks et al. (1974).*

Estado fenológico (código Zadoks)	Descripción
Emergencia de espiga o panícula (Z 50-59)	Primera espiguilla de espiga o panícula visible. En cebada aristas visibles.
Antesis (Z 60-69)	Anteras expuestas. En cebada ocurre dentro de la vaina.
Grano acuoso (Z 70-72)	Granos exudan líquido incoloro ante la presión. Espiga o panícula verde.
Grano Lechoso (Z 73-79)	Granos exudan líquido blanco ante la presión. Espiga o panícula verde.
Grano pastoso (Z 80-89)	Granos con contenido sólido, de consistencia blanda a dura. Espiga o panícula de verde a marrón.
Grano maduro – madurez de cosecha (89-94)	Granos con contenido sólido y duro, no ceden ante la presión. Tallos, hojas y espiga o panícula seca.

En rango numérico en el código Zadoks indica avance del estado de desarrollo dentro de un mismo estado fenológico. En trigo, cebada y centeno la inflorescencia corresponde a una espiga, mientras que en avena la inflorescencia corresponde a una panícula.

4.2.4. Determinaciones de la senescencia foliar

En los experimentos del año 2018 y 2019 la determinación de la degradación de las clorofilas foliares se realizó mediante SPAD (SPAD 502, Konica-Minolta, Japón) que permite determinar en forma indirecta el contenido de clorofilas (“índice de verdor”). Las mediciones de SPAD se realizaron periódicamente cada 5-7 días en las hojas banderas y en las hojas -1 (*i.e.*, hoja inmediatamente inferior a la hoja bandera) del tallo principal y todos los ejes con espigas completamente emergidas (aristas visibles en cebada), existentes en la planta al momento de cada medición. Se eligieron estas hojas para la determinación de SPAD ya que eran hojas completamente desarrolladas (*i.e.*, maduras), no senescentes y expuestas a luz solar directa. Con el fin de medir el mismo eje, se etiquetó previo al inicio del tratamiento el tallo principal, y posterior al inicio del tratamiento cada eje al momento de su primera medición. En cada determinación las hojas banderas y las hojas -1 se midieron en la región basal, media y distal. La medición de SPAD en cada hoja se discontinuó al momento que el valor del mismo fue “cero” (degradación máxima de clorofilas). A partir de las mediciones individualizadas de SPAD en las hojas de todos los ejes se determinó la degradación de la clorofilas foliares en post-antesis (i) del tallo principal y de todos los ejes de la planta (incluye tallo principal y macollos) en ambos años de experimento, (ii) de los “ejes pre-tratamientos” y de los “ejes post-tratamiento” (experimento del año 2018), (iii) del primer eje que alcanzó antesis en el período posterior al inicio del tratamiento (experimento del año 2019).

En los experimentos de los años 2018 y 2019 durante la etapa post-antesis se midió la asimilación neta de CO₂ (An) mediante un analizador de gases del infrarrojo (IRGA, CIRAS 2 Portable Photosynthesis Systems, PP Systems, Estados Unidos) utilizando la cámara (“pinza”) PLC6. Las mediciones se realizaron en la hoja bandera en trigo y avena, y en la hoja -1 en cebada y centeno, entre las 11-14:30 h con una periodicidad de 5-7 días. La elección de la hoja -1 en cebada y centeno, se debió a que la hoja bandera es muy pequeña (< 0.5 cm de ancho) para la cámara de medición utilizada. En ambos años de experimentos las hojas analizadas pertenecían al tallo principal, y además en el año 2019 se midió la An en la hoja bandera del primer eje que alcanzó la antesis posterior al inicio del tratamiento fotoperiódico. La cuantificación de An se realizó a saturación lumínica (A_{sat} o capacidad fotosintética) en días soleados que propiciaban una condición de estabilidad en términos fotosintéticos. En el caso de días nublados, previo a la medición las hojas eran aclimatadas durante 30 min, con lámparas dicróicas (a una distancia de seguridad a la lámina foliar para evitar sobrecalentamiento de la hoja) con una irradiancia similar a la utilizada en la cámara de medición. Las condiciones de la cámara de medición del IRGA fueron: PPDF (“irradiancia”) de 1500 μmoles de fotones m⁻² s⁻¹, concentración de CO₂ de 360 ppm, temperatura de 25 ° C y humedad de 10 mbares. En hojas con un ancho menor a 1.8 cm (menor al diámetro de la celda de medición) se calculó y ajustó en el equipo el área de hoja efectivamente medido; en hojas con un ancho mayor a 1.8 cm se utilizó el área máxima de medición permitida por la cámara (2.54 cm²). Las mediciones de An en cada planta se discontinuaron cuando se alcanzó la An nula (0 μmoles CO₂ m⁻² s⁻¹). En el transcurso de las mediciones, se fueron alternando las especies y tratamientos, para evitar sesgos temporales durante la franja horaria utilizada.

Se estableció el inicio del avance de la degradación de las clorofilas e inicio de avance de la disminución de la An como el primer valor de SPAD o An respectivamente que indica una tendencia clara y continua a la disminución de estas variables. A partir de estos inicios de avance y la degradación máxima de clorofilas o la An nula, se calculó la tasa de avance de degradación de las clorofilas y tasa de avance de disminución de la An respectivamente, ajustando una recta de regresión en este período. También en este período, y como un indicador de la asociación entre estos dos “síntomas” de la senescencia foliar, se ajustó una recta o curva de regresión (según mejor ajuste) entre la disminución de los valores de SPAD y An.

4.2.5. Determinación y análisis de biomasa

En el experimento del año 2018 se realizaron tres muestreos sucesivos: (i) al inicio del tratamiento (antesis, Z 60); (ii) cuando el tallo principal del tratamiento en LD (control) alcanzó el final del estadio de grano pastoso (Z 89), y (iii) una cosecha final cuando cada tratamiento

fotoperiódico alcanzó la madurez (Z 94). En el año 2019 se realizaron dos muestreos, al inicio del tratamiento y a madurez de cosecha de cada tratamiento. En cada muestreo se contabilizó el número total de ejes por planta (incluye tallo principal y macollos), y se los clasificó en ejes fértiles (*i.e.*, ejes con emergencia de espiga o panícula; en el caso de la cebada, con aristas visibles) o no fértiles (*i.e.*, ejes con estadio fenológico previo a emergencia de espiga o panícula). A su vez en cada eje se determinó el número de nudos (nudos con entrenudos > 2 cm de largo), y número de espiguillas y granos por espiga o panícula. A los efectos de las determinaciones el área y peso seco de las hojas, se consideró el limbo foliar como “hoja” y a la vaina como parte del tallo. La determinación del área foliar verde por planta en cada muestreo se realizó a partir del medidor de área (Licor 3100 Area Meter, Li-Cor, Estados Unidos). Una vez realizados los anteriores registros, las muestras se secaron en estufa (Mettler Toledo, Argentina) a 60 °C por al menos 15 días para determinar su peso seco. Por cada eje se determinó la biomasa de tallo, hojas secas, hojas verdes, hojas totales (conjunto de hojas secas y verdes), espiga o panícula, granos y resto de espiga o panícula (*i.e.*, conjunto de raquis, glumas y aristas). El conjunto del peso de tallo y hojas se denominó “biomasa vegetativa”, el conjunto del peso de granos y resto de espiga o panícula como “biomasa reproductiva”; la sumatoria de las anteriores se denominó “biomasa total”. En ambos años de experimentos en la cosecha final se discriminó entre la biomasa aportada por los ejes pre-tratamiento que incluyó tallo principal y ejes con espigas visibles al inicio del tratamiento, y ejes post-tratamiento que incluyó además de ejes con espiga visible posterior al inicio del tratamiento los macollos con estadios fenológicos previos a espiga visible.

Se calculó el peso del tallo, hoja y número de nudos por eje mediante la relación entre el peso y número de los mismos y el número de ejes. El número de granos o espiguillas por espiga o panícula por la relación entre el número de los mismos y el número de ejes fértiles; el número de granos por espiguilla como la relación de número de granos y número de espiguillas por espiga o panícula. El peso individual de los granos se determinó a partir de la relación entre el peso y número de los granos. Con la biomasa total se calculó la tasa promedio de crecimiento absoluto (**AGR**: $(P_2 - P_1) / (T_2 - T_1)$; Hunt 1990) y la tasa promedio del crecimiento relativo (**RGR**: $(\ln P_2 - \ln P_1) / (T_2 - T_1)$; Radford 1967) por planta; donde **P** corresponde a biomasa, **T** a tiempo, y los subíndices 1 y 2 a muestreos sucesivos. Por otro lado, se calculó la partición de la biomasa en biomasa vegetativa y en biomasa de granos o reproductiva por planta utilizando el índice de cosecha modificado (HI)³ de Donald & Hamblin (1976). Por lo tanto, la partición se calculó como: **Partición a semillas/ o partición a biomasa reproductiva: (Peso semilla o Biomasa reproductiva) / (Biomasa total).**

³En el cálculo original de índice de cosecha (HI) de Donald & Hamblin 1976 solo se considera la biomasa de granos; en el presente capítulo se consideró además de la biomasa de granos, la biomasa reproductiva que incluye los granos y resto de espiga o panoja.

4.2.6. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron a partir de modelos lineales mixtos (mlg) o modelos lineales generalizados mixtos (mlgm), cuyo factor fijo fue el tratamiento fotoperiódico post-antesis y el factor aleatorio fue el contenedor (cada contenedor con una planta). Cada uno de los muestreos destructivos y no destructivos tuvieron al menos 5 repeticiones por tratamiento. Se comprobó la distribución normal de los datos a partir del Test de *Shapiro Wilk* (P 0.05), en caso de cumplir este requisito se usó un mlg y en caso de no cumplirlo se utilizó un mlgm, donde se comprobó que no existiese sub o sobre parametrización del modelado de los datos (*desviance / grado de libertad* ≈ 1). También se comprobó la homogeneidad de la varianza a partir de la prueba de Levene (P 0.05); en caso de no cumplirla al modelo se le agregó una varianza heterogénea. Los ANOVAS de los modelos mixtos se analizaron a 3 niveles de significancia estadística (P 0.05, 0.01, 0.001).

Las mediciones repetidas en el tiempo (SPAD y An) se analizaron como datos longitudinales al igual que en el capítulo III. La tasa de avance de la degradación de las clorofilas, tasa de avance de disminución de la An y la relación entre ellas se calculó mediante el ajuste de una recta o curva de regresión (según mejor ajuste) como se detalló en capítulo III. En cada recta o curva se comprobó que el ajuste fuera significativamente diferente de cero y se calculó el coeficiente de determinación (R^2) para cada tratamiento fotoperiódico post-antesis. La tasa de avance de la degradación de las clorofilas y tasa de avance de disminución de la An se calculó mediante el ajuste de una recta de regresión, mientras que la relación entre las dos tasas se calculó mediante una recta o curva de regresión (según mejor ajuste). El cálculo de las regresiones anteriores se realizó como se detalló en el capítulo III. Para cada recta o curva se comprobó que el ajuste fuera significativamente diferente de cero y se calculó el coeficiente de determinación (R^2) para cada tratamiento fotoperiódico post-antesis.

El programa estadístico utilizado fue InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020), y los gráficos se realizaron con el programa Excel versión 2016 (Microsoft Office Professional Plus 2016) al igual que en el capítulo III.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Condiciones ambientales y desarrollo durante post-antesis

En el experimento del año 2017 la antesis (Z 60) se alcanzó en trigo y cebada después del 21 de junio (*i.e.*, menor fotoperíodo del año) por lo que la etapa de post-antesis transcurrió en un fotoperíodo creciente (Fig. suplementaria 4.1). Por otro lado, durante los experimentos de 2018 y 2019 la antesis se alcanzó previa al 21 de junio, por lo que la post- antesis

transcurrió en un primer momento en un fotoperíodo decreciente y luego creciente (Fig. suplementaria 4.1). Indistintamente del momento del año donde se alcanzó la antesis, los tratamientos de LD tuvieron 4 h adicionales en relación a los SD (Fig. suplementaria 4.1). En los tres años de experimentos en ambos tratamientos el rango de fotoperíodo (*i.e.*, variación entre fotoperíodo mínimo y máximo durante la post- antesis) fue de 0.85 - 2.65 h (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Duración, rango de fotoperíodo y radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) durante la post-antesis en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) en experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie	Tratamiento	Duración antesis- madurez de cosecha (d)	Rango de fotoperíodo (h)	PARac (MJ m ⁻²)
2018				
Trigo	LD	78	13.8 – 14.6	277.7
	SD	111	9.8 – 11	423.0
Cebada	LD	80	13.8 – 14.5	284.9
	SD	108	9.8 – 11.1	419.5
Avena	LD	122	13.8 – 15.2	455.1
	SD	168	9.8 – 12.4	726.1
Centeno	LD	100	13.8 – 14.9	351.8
	SD	141	9.8 – 11.7	581.2
2019				
Trigo	LD	63	13.8 – 14.9	235.5
	SD	92	9.8 – 10.9	344.1

La PARac se calculó por la sumatoria de radiación global incidente diaria transformada por el factor 0.48 en cada intervalo. Ver materiales y métodos para una descripción más detallada.

En todos los experimentos y especies, la exposición bajo SD (*i.e.*, fotoperíodo “no inductivo”) demoró el desarrollo en post-antesis en relación a los LD (*i.e.*, fotoperíodo “inductivo”). En el experimento del año 2017, a los 79 y 66 días post-antesis (dpa) en trigo y cebada respectivamente cuando se finalizó el ensayo en ambos tratamientos, las plantas bajo LD tenían un desarrollo correspondiente a madurez de cosecha (Z 94 en el 78-88 % de los macollos por planta), mientras que bajo SD la fenología era de grano lechoso - pastoso (Z 94 en el 24-28 % de los macollos de cada planta) (Tabla suplementaria 4.2). En los experimentos del año 2018 y 2019, en trigo y cebada la madurez de cosecha se retrasó entre 28-33 días bajo SD en relación de LD (Tabla 4.2). En avena y centeno la demora en alcanzar la madurez de cosecha bajo SD fue mayor que en las anteriores especies, y fue del orden de los 41-46 días (Tabla 4.2). A madurez de cosecha, el 87-91% (dependiendo del experimento) y 61% de los ejes (incluye tallo principal y macollos) en trigo y cebada respectivamente tenían el desarrollo correspondiente a Z 94 en LD (*i.e.*, los macollos restantes estaban en un estadio previo a Z 94), mientras que en SD este estado fenológico (Z 94) estaba presente en el 52-67 % (dependiendo del experimento) de los ejes en trigo y en el 51 % en cebada. En avena y

centeno el 62 y 51 % de los ejes se correspondían con Z 94 en ambos tratamientos al momento de madurez de cosecha. Consecuentemente con la demora en el desarrollo, la radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) durante la etapa de post-antesis, fue entre un 46-65 % mayor (dependiendo de la especie) bajo SD en comparación de LD en los experimentos de los años 2018 y 2019 (Tabla 4.2).

4.3.2. Modificación de la senescencia foliar durante post-antesis

En los experimentos de los años 2018 y 2019, la degradación de las clorofilas foliares caracterizada por los cambios en valores de SPAD tanto en las hojas banderas como en las hojas de posición -1, estuvo demorada en todas las especies expuestas bajo SD durante post-antesis en comparación a las expuestas en LD al tener en cuenta la totalidad de los ejes (incluye tallo principal y todos los macollos con hojas completamente expandidas y espiga completamente emergida) de la planta (Fig. 4.1; 4.2). En el experimento del año 2018, en trigo la demora en la degradación de las clorofilas en SD se observó 7 días antes en la hoja -1 en relación de la hoja bandera (Fig. 4.1), mientras que en cebada y avena el retraso se registró 7 y 39 días antes respectivamente, en la hoja bandera al contrastar con la hoja -1 (Fig. 4.1). Por otro lado, en centeno y trigo de los experimentos de los años 2018 y 2019 respectivamente, la demora en la degradación de las clorofilas se evidenció en forma simultánea en ambas hojas ante la exposición bajo SD (Fig. 4.1; Fig. suplementaria 4.2).

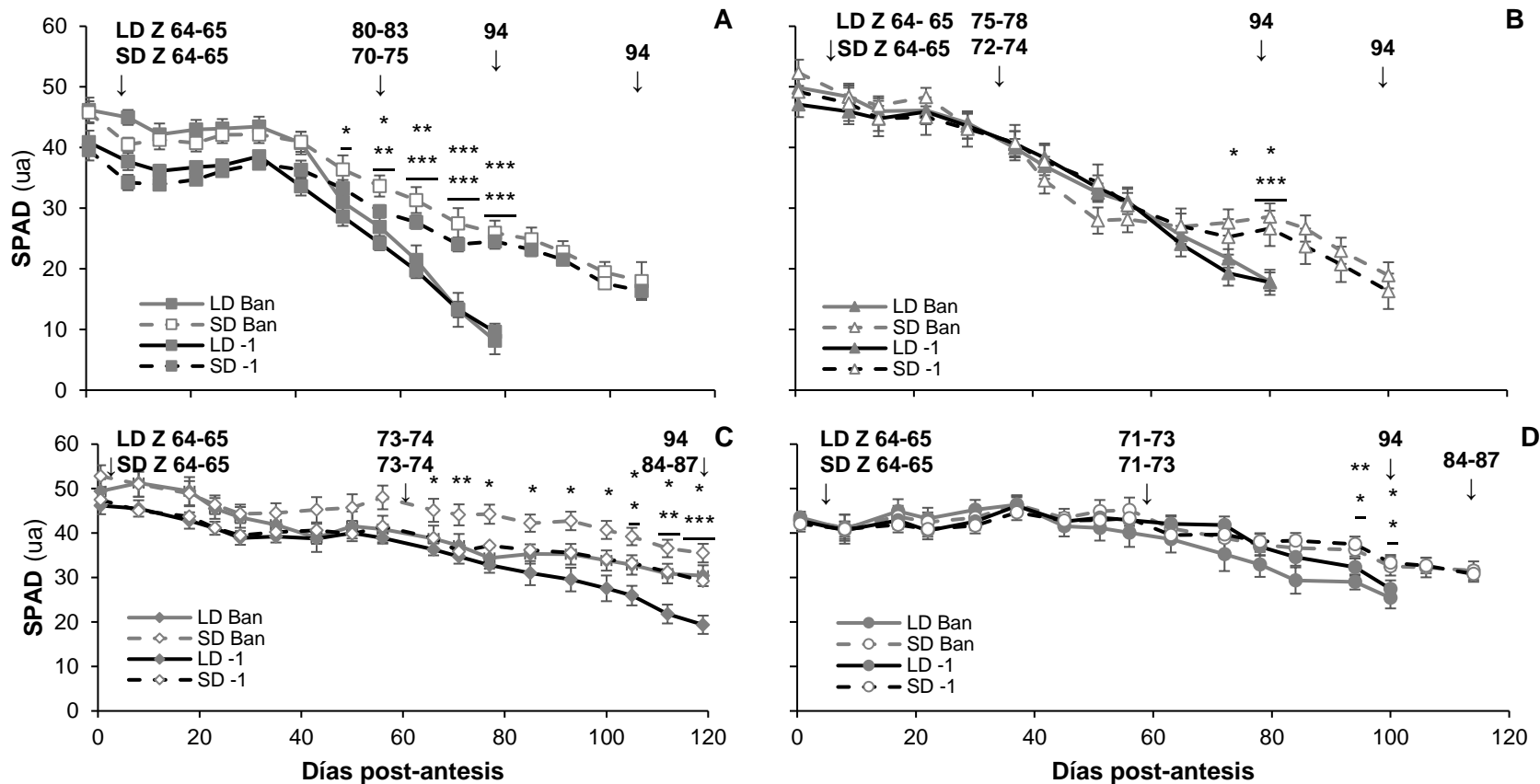


Figura 4.1. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir de índice de “verdor” SPAD) en hoja bandera (Ban) y hoja -1 (-1) considerando la totalidad de los ejes en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en el experimento del año 2018. (A) Trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. En la parte superior de los gráficos la flecha (↓) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. Los asteriscos sin subrayar (*) y los asteriscos subrayados (̲) se corresponden a la P en hoja ban y -1 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

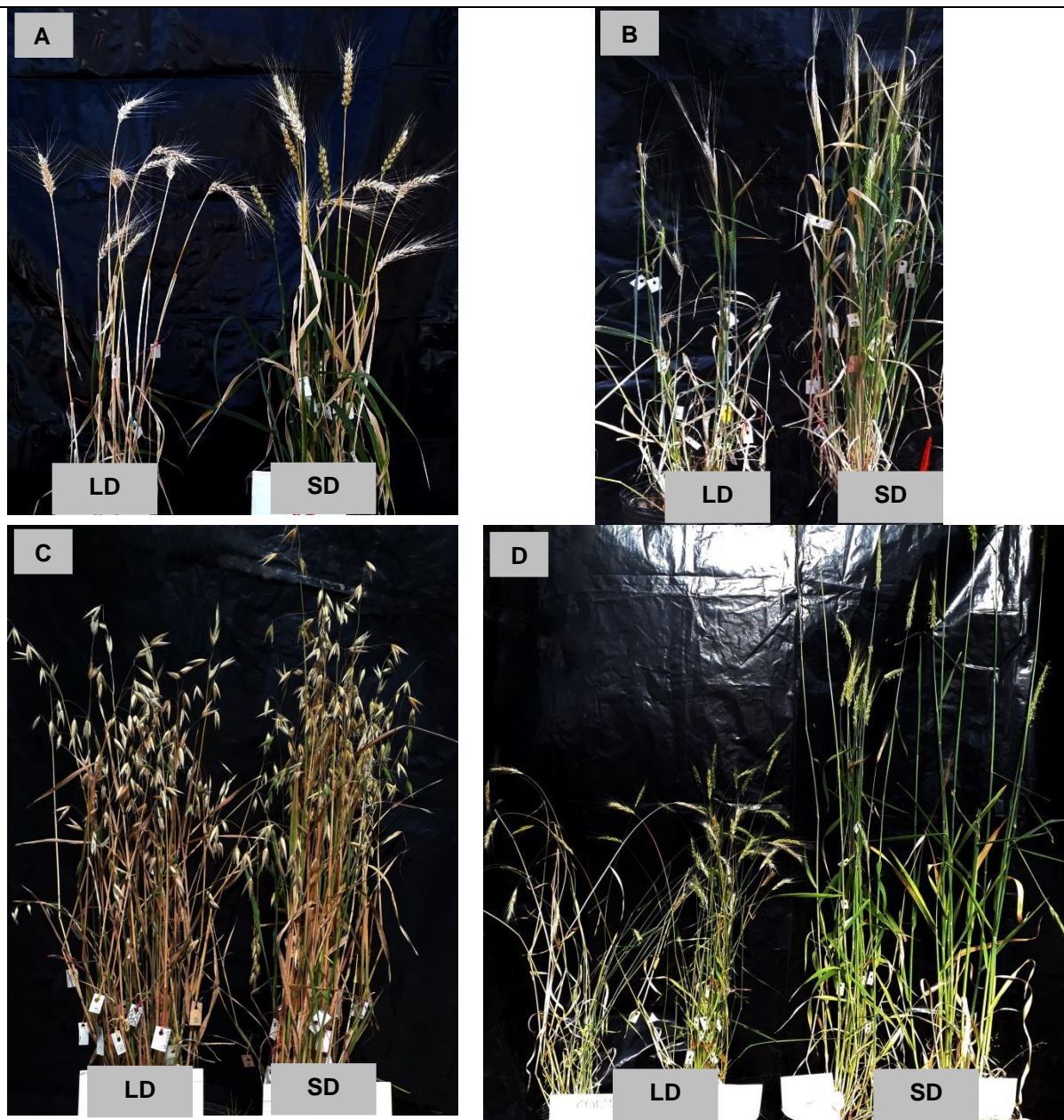


Figura 4.2. Vista general de plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) en post- antesis en el experimento del año 2018. (A) Trigo, a los 78 días post-antesis (dpa), (B) cebada a los 80 dpa, (C) avena a los 122 dpa y (D) centeno a los 88 dpa.

En el experimento del año 2018, y en forma similar a lo registrado en la totalidad de los ejes, la exposición bajo SD en post-antesis demoró la degradación de las clorofilas en las hojas bandera, en las hojas -1 o en ambas hojas en los “ejes pre-tratamiento” (incluye tallo principal y macollos con espiga completamente emergida al inicio del tratamiento) y en los “ejes post- tratamiento” (incluye macollos con espiga completamente emergida posterior al inicio del tratamiento) en comparación a los LD. En las especies trigo, cebada y centeno en las hojas bandera y hojas -1, tanto en los ejes pre-tratamiento como post-tratamiento bajo SD, se registró una menor degradación de las clorofilas (*i.e.*, evidenciado por mayores valores de SPAD) durante la post-antesis que bajo LD (Fig. 4.3, 4.4). En las anteriores especies la degradación máxima de las clorofilas (*i.e.*, valor 0 SPAD), solo se alcanzó en los ejes pre-tratamiento (Fig. 4.3, 4.4). En trigo y cebada en los ejes pre-tratamiento la degradación máxima estuvo demorada bajo SD entre 14-28 y 7-28 días (dependiendo de la hoja) respectivamente que en los tratamientos bajo LD (Fig. 4.3). En los ejes pre-tratamiento de centeno la degradación máxima se retrasó 30 días bajo SD en comparación de LD en las hojas banderas, mientras que en las hojas -1 solo se alcanzó en los LD al momento de la finalización del ensayo (Fig. 4.3). En avena la menor degradación de las clorofilas bajo SD se evidenció en las hojas bandera de los ejes pre-tratamiento y en las hojas -1 de los ejes post-tratamiento (Fig. 4.3, 4.3). La degradación máxima de clorofila en esta especie al finalizar el ensayo, solo se observó en las hojas bandera de los tratamientos de LD en los ejes pre-tratamiento (Fig. 4.4).

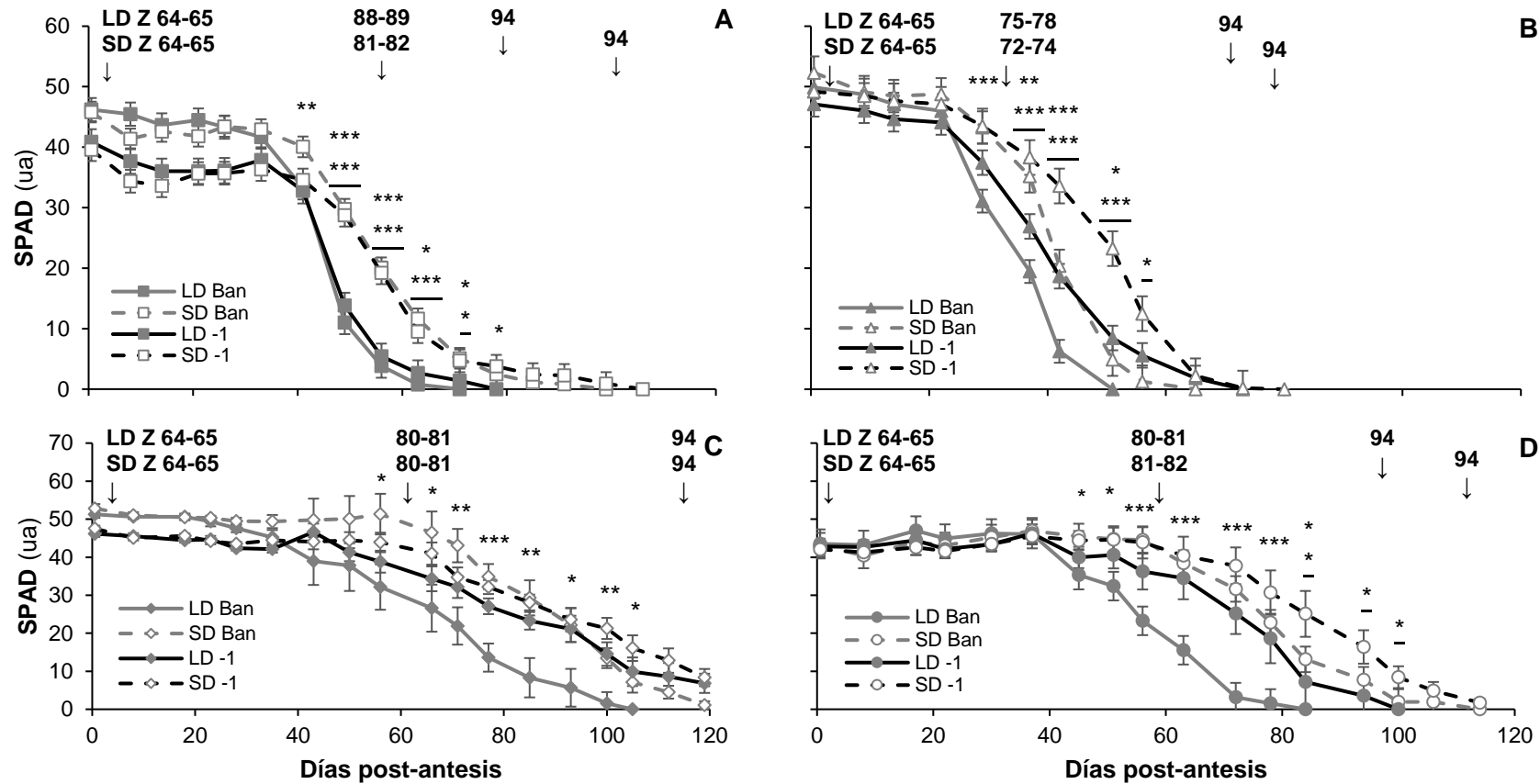


Figura 4.3. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir de índice de “verdor” SPAD) en hoja bandera (Ban) y hoja -1 (-1) considerando los ejes “pre-tratamiento” en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en el experimento del año 2018. (A) Trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. En la parte superior de los gráficos la flecha (↓) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. Los asteriscos sin subrayar (*) y los asteriscos subrayados (*) se corresponden a la P en hoja ban y -1 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

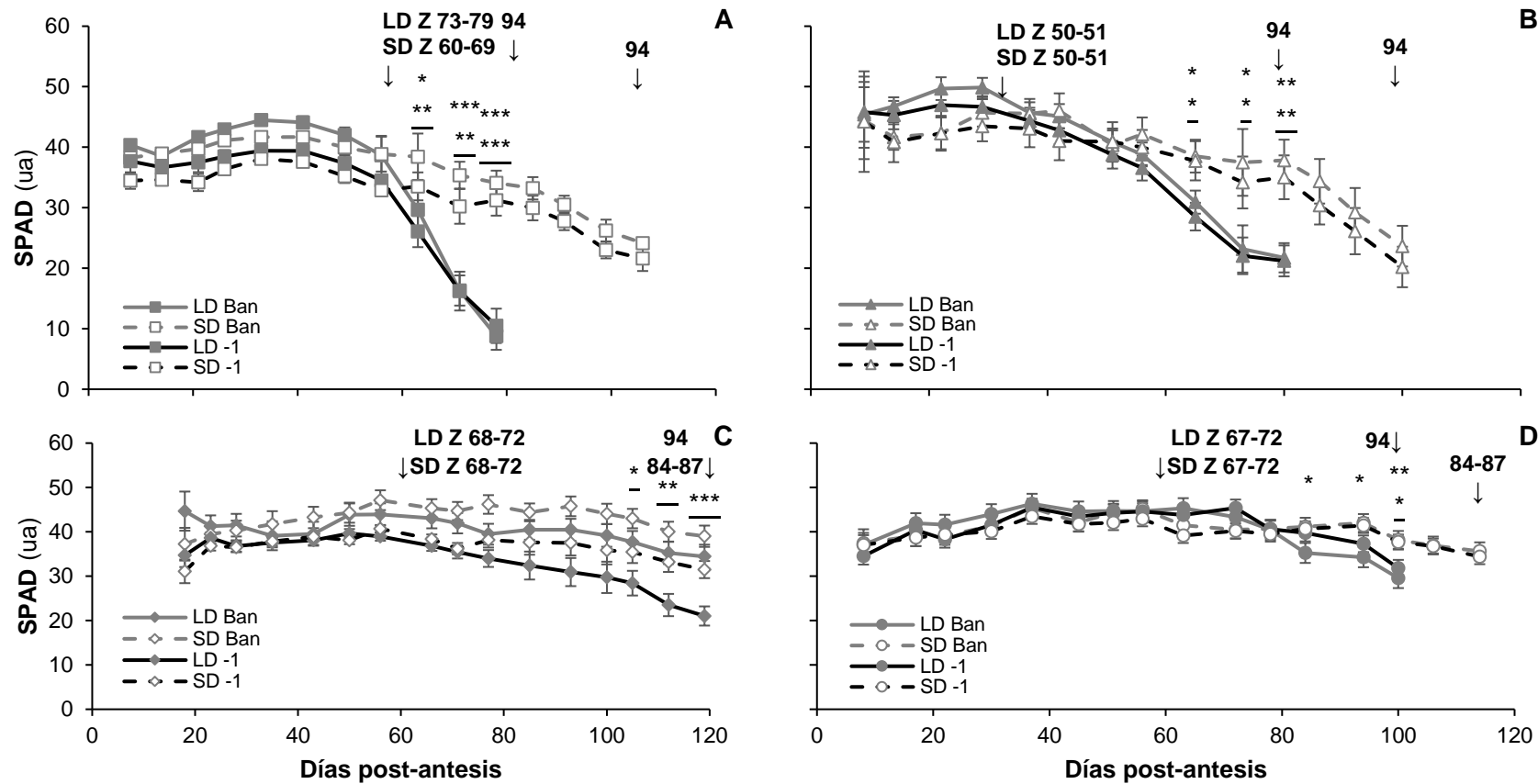


Figura 4.4. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir de índice de “verdor” SPAD) en hoja bandera (Ban) y hoja -1 (-1) considerando los ejes “post-tratamiento” en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en el experimento del año 2018. (A) Trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. En la parte superior de los gráficos la flecha (↓) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. Los asteriscos sin subrayar (*) y los asteriscos subrayados (*) se corresponden a la P en hoja ban y -1 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

En el tallo principal de los experimentos de ambos años y en el primer eje posterior al inicio del tratamiento que alcanzó antesis en el año 2019, en plantas de trigo, avena y centeno expuestas en post-antesis en SD existió una degradación más lenta de las clorofilas foliares en relación a la exposición en LD. En estas especies en la hoja bandera el inicio del avance de la degradación de las clorofilas (*i.e.*, primer valor de SPAD que indica una tendencia decreciente y continua de estos valores en el tiempo) y la degradación máxima de las mismas se registró entre 5-21 días después (dependiendo de la especie) bajo SD en comparación de LD (Fig. 4.5; Fig. suplementaria 4.2). Por otro lado, en las hoja -1 el inicio del avance de la degradación de las clorofilas en general fue simultáneo en ambos tratamientos; en cambio, la degradación máxima de las clorofilas se demoró 15 días en trigo (en ambos experimentos) y 14 días centeno en los SD, mientras que en avena no se constató la degradación máxima producto que el ensayo finalizó previamente a este momento (Fig. 4.5; Fig. suplementaria 4.2). Las tasas de degradación de las clorofilas (estimadas a partir de la recta de regresión entre el inicio del avance y degradación máxima de las clorofilas) en general no tuvo cambios entre tratamientos en ambas hojas en los experimentos del año 2018 (Fig. 4.5). En cambio, en el experimento del año 2019, en plantas de trigo tanto en el tallo principal como en el primer macollo que alcanzó la antesis posterior al inicio del tratamiento, la tasa de degradación de las clorofilas en ambas hojas fue menor bajo SD en relación a los LD (Fig. suplementaria 4.2). En cebada en ninguna de las hojas del tallo principal se observó diferencia en el inicio de la degradación, la degradación máxima y la tasa de degradación de clorofilas entre los tratamientos (Fig. 4.5).

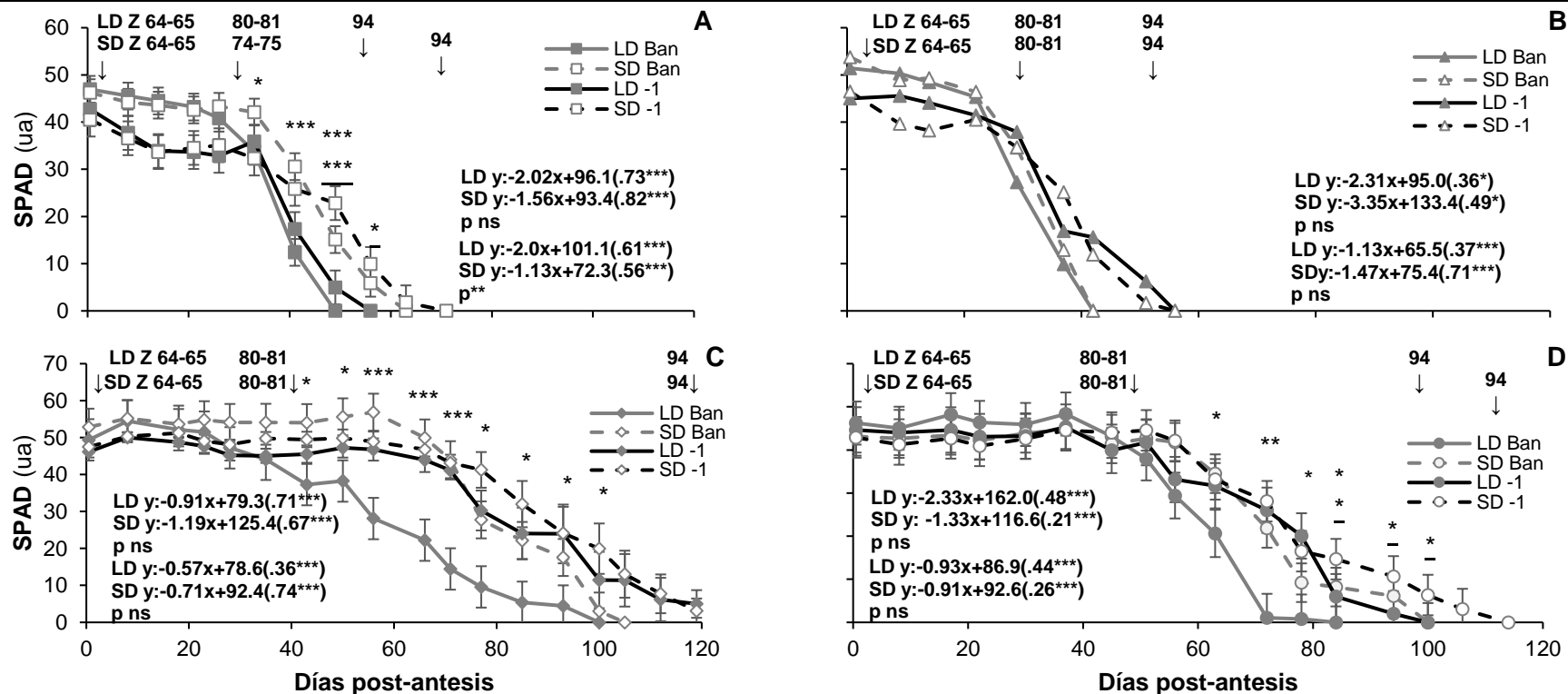


Figura 4.5. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir de índice de “verdor” SPAD) en hoja bandera (Ban) y hoja -1 (-1) considerando los tallos principales en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en el experimento del año 2018. (A) Trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. En la parte superior de los gráficos la flecha (↓) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Las ecuaciones representan la tasa de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre en inicio de avance de la degradación y la degradación máxima de clorofilas) en hoja ban y -1 ecuación superior e inferior respectivamente; Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos, y ns ausencia de diferencia. Los asteriscos sin subrayar (*) y los asteriscos subrayados (*) se corresponden a la P en hoja ban y -1 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

En los tallos principales del experimento del año 2018, la asimilación neta de dióxido de carbono (A_n a saturación lumínica) en trigo, avena y centeno se prolongó durante la post-antesis en plantas expuestas bajo SD en comparación de LD (Fig. 4.6). El inicio de avance de la disminución de la A_n (*i.e.*, primer valor de A_n que indica una disminución sostenida) no estuvo modificada entre tratamientos, en cambio la tasa de avance de la disminución de A_n (*i.e.*, la pendiente de la recta de regresión ajustada, calculada entre inicio del avance de la disminución y A_n nula) fue consistentemente menor bajo SD en relación de LD (Fig. 4.6). Consecuentemente con la menor tasa de avance de la disminución de A_n , la A_n persistió en plantas expuestas bajo SD entre 7-14 días más (dependiendo de la especie) que bajo LD (Fig.4.6). En cebada, por el contrario, no se registraron estas tendencias y la A_n no tuvo cambios entre tratamientos (Fig. 4.6). En el experimento del año 2019 en trigo tanto el tallo principal como el primer eje en alcanzar la antesis post-tratamiento, se evidenció la misma persistencia de la A_n bajo SD en comparación de LD que en el experimento del año 2018. (Fig. suplementaria 4.3). Sin embargo, en el primer eje en alcanzar la antesis post-tratamiento los efectos de SD sobre la A_n fueron más acentuados que en el tallo principal, ya que la tasa de avance de la disminución fue más lenta (pendientes de las tasas avance de disminución de A_n 0.41 vs. 0.55 $\mu\text{moles CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ d}^{-1}$) y la persistencia en la A_n fue mayor (14 vs. 10 días) (Fig. suplementaria 4.3).

En los experimentos de ambos años en todas las especies los dos síntomas de la senescencia analizados (*i.e.*, degradación de las clorofilas y disminución de la A_n durante la post-antesis) estuvieron asociados en ambos tratamientos fotoperiódicos. En general el inicio del avance de la disminución de la A_n antecedió el inicio del avance de la degradación de las clorofilas, y consecuentemente la A_n nula precedió a la degradación máxima de clorofilas foliares en los dos tratamientos (Fig. 4.5, 4.6; Fig. suplementaria 4.2 ,4.3). Por otro lado, la tasa de avance de la degradación de las clorofilas y la tasa de avance de la disminución de la A_n se asociaron significativamente mediante una recta (trigo y cebada) o curva de regresión (avena y centeno), con un alto coeficiente de determinación ($R^2 > 0.72$) en ambos tratamientos (Fig. suplementaria 4.4 y 4.5).

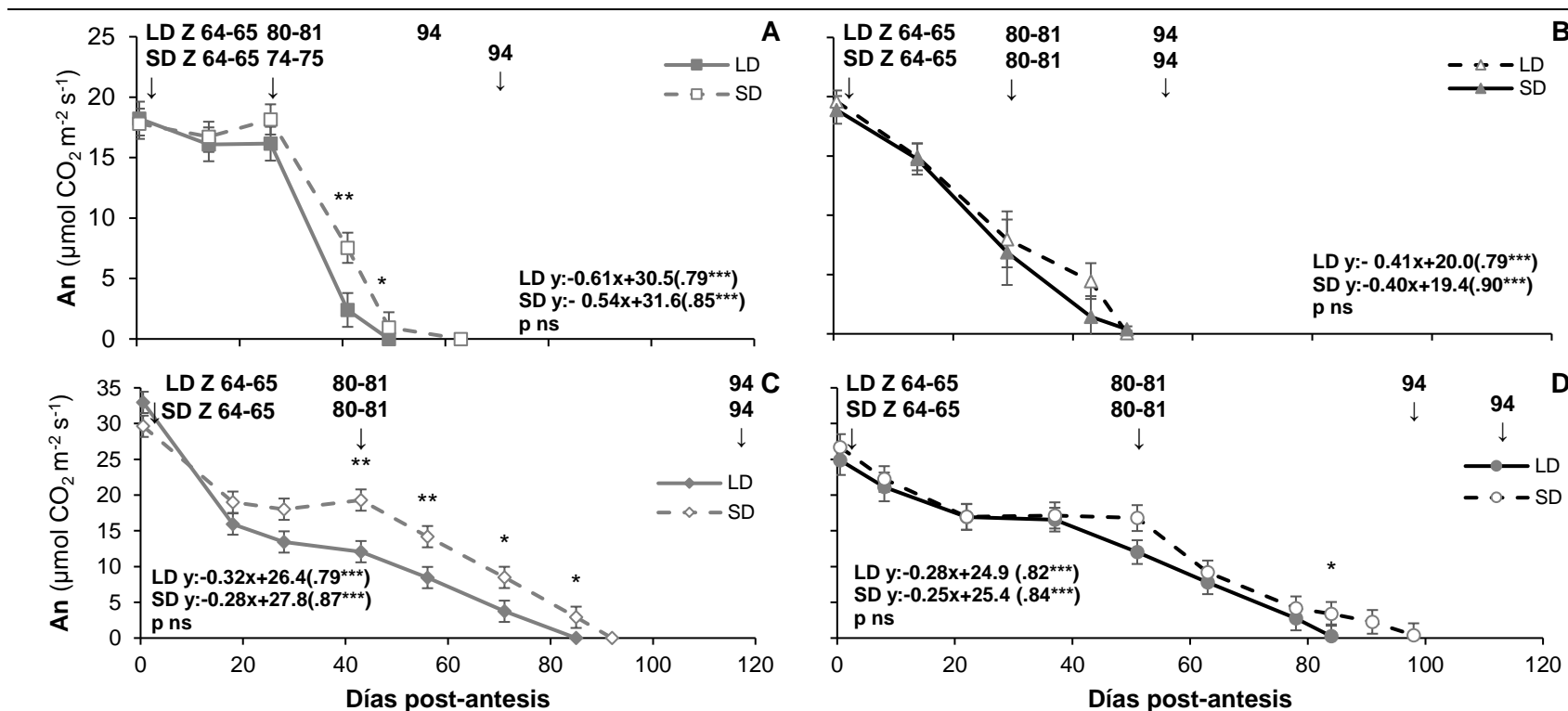


Figura 4.6. Modificación de la asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en el tallo principal de plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) Trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. En trigo y avena la determinación de A_n se realizó en la hoja B_{an} , y en cebada y centeno en la hoja -1. En la parte superior de los gráficos la flecha (\downarrow) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Las ecuaciones representan la tasa de avance de disminución de la A_n (calculada entre en inicio de avance de la disminución de A_n y A_n nula); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos, y ns ausencia de diferencia. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

4.3.3. Modificación de la biomasa vegetativa durante la post- antesis

En el experimento del año 2018 en el muestreo intermedio en trigo y cebada el área foliar y peso de hojas verde por planta aumentaron entre 240-270 y 170-190 % respectivamente en SD en comparación de LD (Tabla suplementaria 4.3). En este muestreo no se registraron otros cambios en relación a la biomasa vegetativa en ninguna de las especies entre los tratamientos fotoperiódicos (Fig. 4.7).

En ambos años de experimentos (2018 y 2019) a madurez de cosecha (Z 94), en todas las especies la biomasa vegetativa (*i.e.*, conjunto del peso de tallos y hojas totales (hojas secas y verdes)) por planta fue significativamente mayor bajo SD en relación de LD (Fig. 4.7). En trigo, el aumento de biomasa vegetativa bajo SD fue de 51 y 92 % en el año 2018 y 2019 respectivamente (Fig. 4.7; Fig. suplementaria 4.6); mientras que en cebada, avena y centeno bajo SD se registraron incrementos del 55, 76 y 20 % respectivamente (Fig. 4.7). La mayor biomasa vegetativa bajo SD se correspondió en todas las especies con el incremento del peso de los tallos por planta (Fig. 4.7; Fig. suplementaria 4.6). El mayor peso de los tallos por planta en trigo y cebada, se registró junto al incremento del número de ejes por planta bajo SD post-antesis, sin cambios entre tratamientos en el peso del tallo y de hojas por eje (Tabla 4.3). En avena y centeno no se observaron cambios entre tratamientos en el número de ejes por planta (Tabla 4.3). Sin embargo, en centeno el peso del tallo y de hojas por eje fue mayor bajo SD en comparación de LD (tabla 4.3). Finalmente, se registró que el peso de hojas totales por planta aumentó un 111, 27 y 8 % en trigo (año 2019), avena y centeno respectivamente ante la exposición de las plantas bajo SD en comparación de LD durante post-antesis.

A madurez de cosecha (Z 94) en ambos años de experimentos en los ejes pre-tratamientos no se registraron cambios entre LD y SD post-antesis en la biomasa vegetativa ni en ninguno de sus componentes (*i.e.*, peso de tallos y hojas) (Fig. 4.8; Fig. suplementaria 4.6). Respecto a los ejes post-tratamiento en todas las especies, el peso de la biomasa vegetativa y del tallo por planta tuvo un aumento significativo bajo SD en relación de LD post-antesis (Fig. 4.8; Fig. suplementaria 4.6). En trigo y cebada se incrementó el número de ejes post-tratamiento por planta bajo SD, en cambio en avena y centeno no se observaron diferencias en este número entre tratamientos (tabla 4.3). En trigo (año 2019) y centeno los ejes post-tratamiento registraron un aumento del peso del tallo por eje bajo SD; mientras que también bajo SD se registró un aumento en el peso de las hojas por eje en avena y centeno (Tabla 4.3). En los ejes post- tratamiento

el peso de hojas totales por planta en trigo (2019), avena y centeno aumentó en las plantas expuestas bajo SD en relación de LD (Fig. 4.8; Fig. suplementaria 4.6).

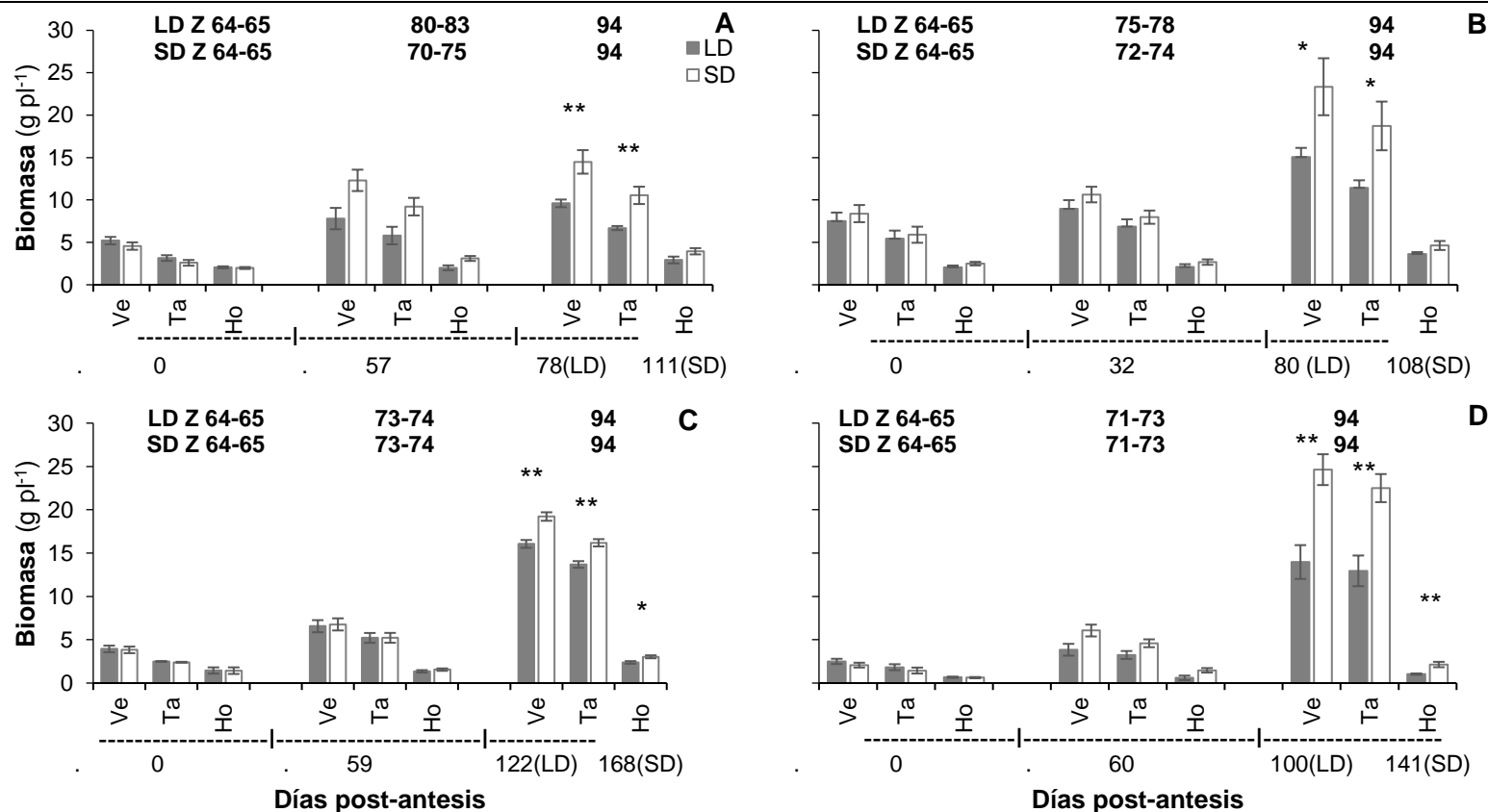


Figura 4.7. Biomasa vegetativa (Ve), de tallos (Ta) y de hojas totales (Ho) considerando todos los ejes en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. La biomasa vegetativa incluye peso de tallos y hojas totales, mientras que la biomasa de hojas totales incluye hojas secas y verdes. En la parte superior del gráfico se indican los estadios fenológicos según escala de Zadoks et al. (1974). Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (57, 32, 59 y 60 dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (Z 94) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla 4.3. Número de ejes, de nudos por eje, peso de tallos y hojas por eje considerando la totalidad de los ejes, los ejes pre-tratamiento y los post-tratamiento a madurez de cosecha (Z 94) plantas de en trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Totalidad de ejes				Ejes pre-tratamiento			Ejes post-tratamiento		
		Número de ejes (Nº pl ⁻¹)	Número de nudos (Nº eje ⁻¹)	Peso de tallo (g eje ⁻¹)	Peso de hojas (g eje ⁻¹)	Número de ejes (Nº pl ⁻¹)	Peso de tallo (g eje ⁻¹)	Peso de hojas (g eje ⁻¹)	Número de ejes (Nº pl ⁻¹)	Peso de tallo (g eje ⁻¹)	Peso de hojas (g eje ⁻¹)
2018											
Trigo	LD	11	4	0.66	0.30	4	0.69	0.31	7	0.64	0.28
	SD	20	4	0.53	0.20	3	0.62	0.30	17	0.51	0.18
Cebada	LD	32	5	0.37	0.12	4	0.54	0.27	28	0.35	0.10
	SD	40	5	0.46	0.11	5	0.65	0.29	35	0.43	0.09
Avena	LD	59	4	0.23	0.04	3	0.61	0.23	56	0.21	0.03
	SD	62	4	0.27	0.05	3	0.58	0.24	59	0.25	0.04
Centeno	LD	41	4	0.32	0.02	3	0.40	0.07	38	0.31	0.02
	SD	36	5	0.65	0.06	3	0.47	0.11	33	0.67	0.06
2019											
Trigo	LD	12	4	0.79	0.23	7	1.03	0.30	5	0.36	0.12
	SD	26	4	0.68	0.22	7	1.09	0.33	19	0.52	0.18
		**	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	*	ns

La totalidad de los ejes considera ejes pre-tratamiento y post-tratamiento fértiles y no fértiles. La madurez de cosecha (Z 94) fue determinada según Zadoks et al. (1974). La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

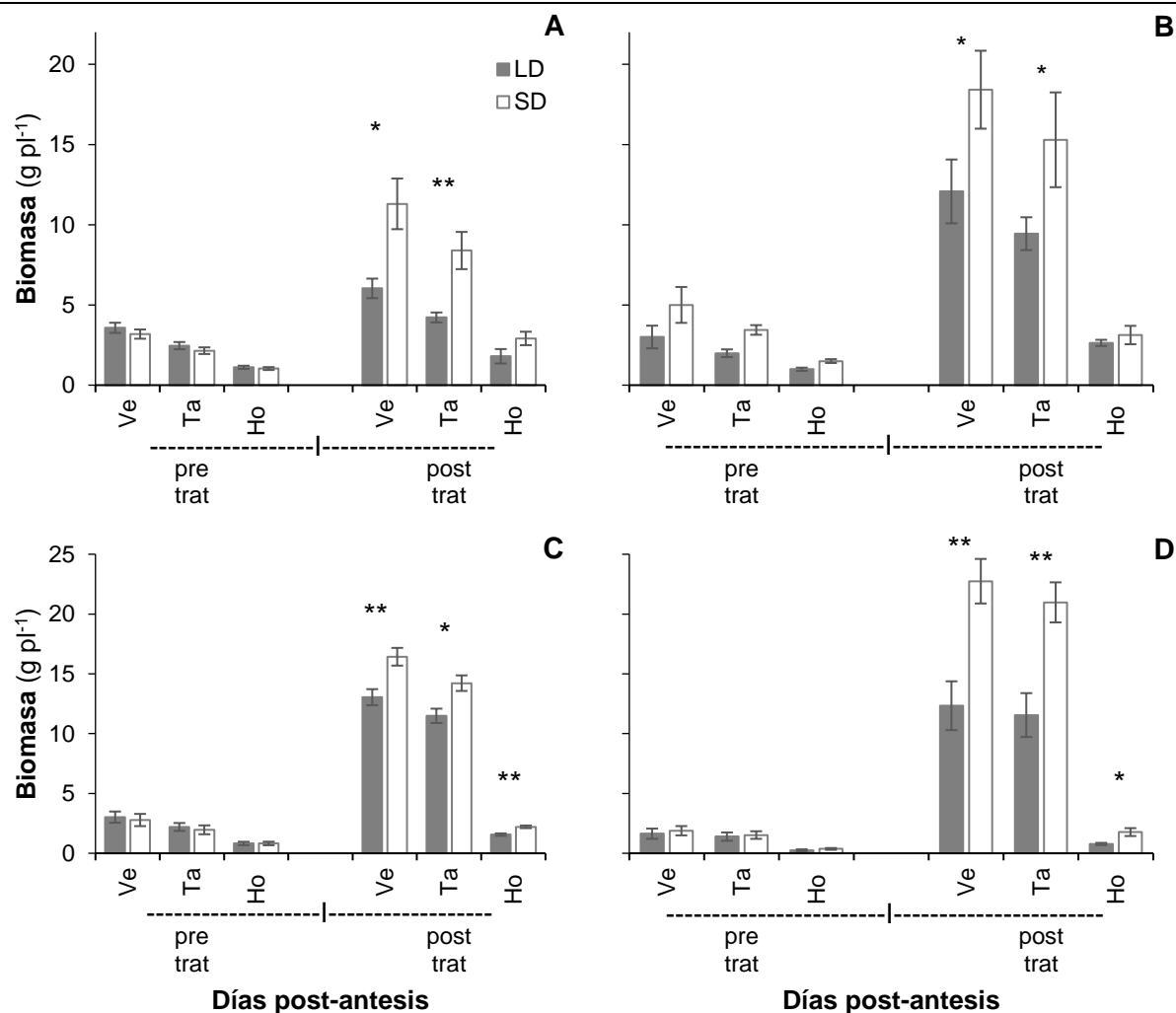


Figura 4.8. Biomasa vegetativa (Ve), de tallos (Ta) y de hojas totales (Ho) a madurez de cosecha (Z 94) considerando los ejes pre-tratamiento (pre trat) y post-tratamiento (post trat) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. La biomasa vegetativa incluye peso de tallos y hojas totales, mientras que la biomasa de hojas totales incluye hojas secas y verdes. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

4.3.4. Modificación de la biomasa reproductiva durante post- antesis

En el experimento del año 2018 en el muestreo intermedio previo a madurez de cosecha ($Z = 94$) no existió diferencia significativa en la biomasa reproductiva (*i.e.*, conjunto del peso de granos y resto de espiga o panícula (raquis, glumas y aristas)) entre tratamientos fotoperiódicos en ninguna de las especies (Fig. 4.9). En cambio, en ambos años de experimentos en el muestreo final realizado a madurez de cosecha, se registró que en trigo (2019) y en avena existió un aumento en la biomasa reproductiva de las plantas bajo SD en comparación con el tratamiento de LD (Fig. 4.9; Fig. suplementaria 4.7). Congruentemente, en estas especies se incrementó el peso de los granos por planta en los SD (Fig. 4.9; Fig. suplementaria 4.7). En trigo (2019) el peso individual de los granos disminuyó bajo SD en relación de LD, mientras que en avena se observó lo contrario (Tabla 4.4). En relación al peso del resto de espiga bajo SD en trigo (2018 y 2019) y en cebada existió un incremento en comparación a las plantas expuestas bajo LD en post-antesis (Fig. 4.9; Fig. suplementaria 4.7).

A madurez de cosecha bajo SD post-antesis se registraron entre 7-10 ejes fértiles (*i.e.*, ejes con espigas o panojas, $Z > 50$) más por planta en trigo (en ambos años) y en cebada en relación a los LD (Tabla suplementaria 4.4). En trigo también aumentó el número de ejes no fértiles (*i.e.*, ejes sin espiga o panoja expuesta, $Z < 50$), aunque este incremento fue menor al evidenciado en los ejes fértiles (Tabla suplementaria 4.4). En avena y centeno, por otra parte, el número de ejes fértiles no cambió entre tratamientos; sin embargo, en avena el número de ejes no fértiles fue mayor bajo SD con respecto de LD (Tabla suplementaria 4.4). En trigo y avena las plantas bajo SD generaron un mayor número de granos por planta que en LD; este aumento fue del 16% al 67 % en 2018 y 2019 respectivamente en trigo y del 24 % en avena (Tabla 4.4). Además, en trigo y también en cebada se registró un aumento en el número de espiguillas por planta en los SD post-antesis (Tabla 4.4). En general, en ninguna de las especies existió una diferencia en el número de granos y de espiguillas por espiga o panícula entre los tratamientos; la única excepción fue el aumento de estos componentes bajo SD en trigo del experimento del año 2018 (Tabla 4.4). El número de granos por espiguilla en trigo (2018) y cebada disminuyó en plantas expuestas bajo SD en relación a los LD, en cambio en avena se registró lo opuesto (Tabla 4.4).

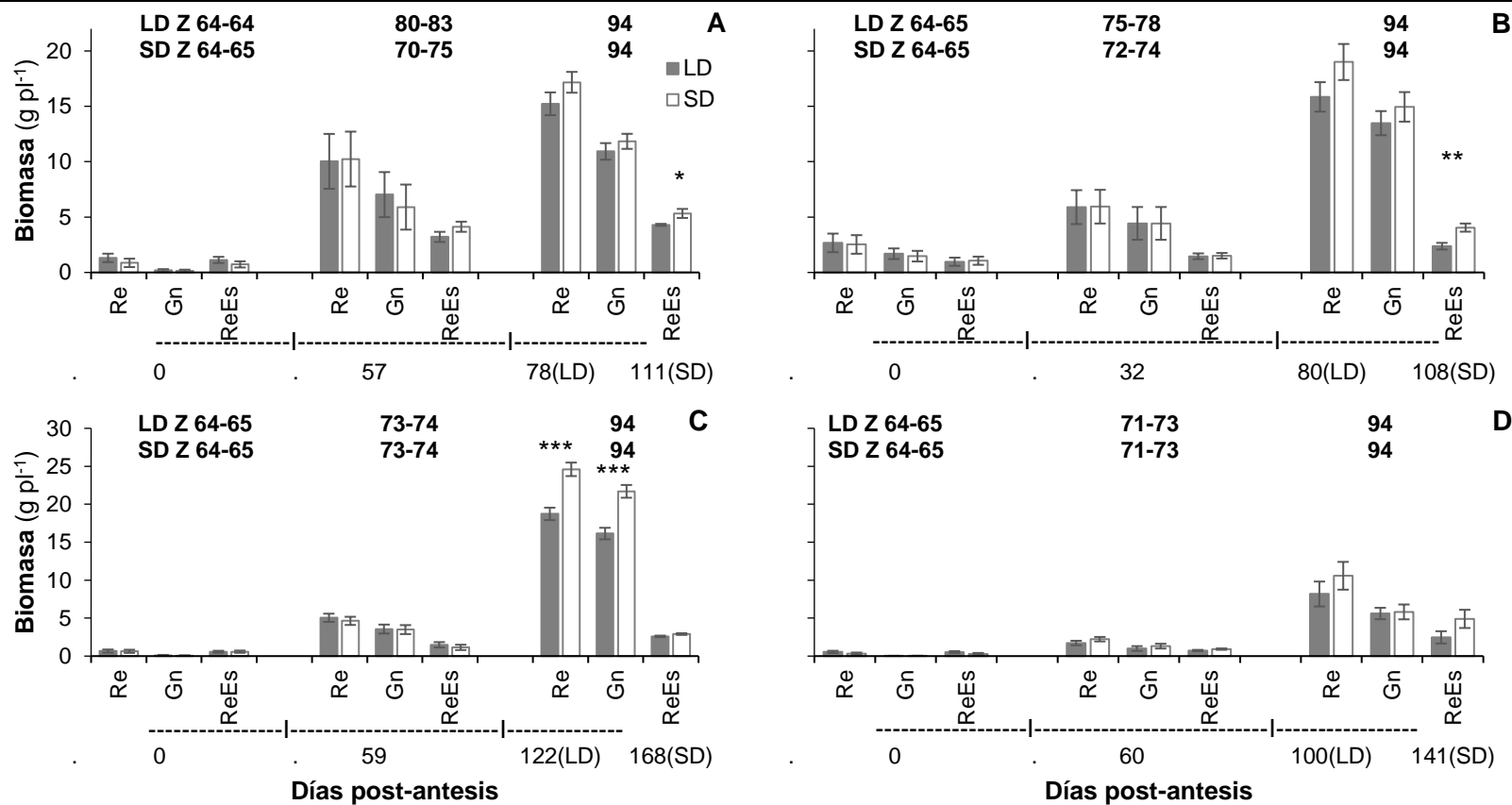


Figura 4.9. Biomasa reproductiva (Re), de granos (Gn) y del resto de espigas o panículas (ReEs) considerando todos los ejes en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. La biomasa reproductiva incluye peso de granos y resto de espiga o panícula; la biomasa resto de espiga incluye peso de raquis, glumas y aristas de espiga o panícula. En la parte superior del gráfico se indica estadios fenológicos según escala de Zadoks et al. (1974). Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (57, 32, 59 y 60 dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (Z 94) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla 4.4. Número de granos y espiguillas por planta y por espiga o panícula, número de granos por espiguillas y peso individual de grano considerando la totalidad de los ejes a madurez de cosecha (Z 94) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie	Tratamiento	Número de granos por planta (N ^o pl ⁻¹)	Número de espiguillas por planta (N ^o pl ⁻¹)	Número de granos por espiga (N ^o esp ⁻¹)	Número de espiguillas por espiga (N ^o esp ⁻¹)	Número de granos por espiguilla (N ^o esp ^g ⁻¹)	Peso individual de grano (mg Gn ⁻¹)
2018							
Trigo	LD	290	163	30	17	1.79	37.81
	SD	336 *	243 **	20 **	14 **	1.40 *	35.45 ns
Cebada	LD	327	548	13	22	0.60	42.57
	SD	353 ns	803 ***	9 ns	21 ns	0.44 **	40.88 ns
Avena	LD	532	350	10	6	1.52	30.40
	SD	661 **	378 ns	13 ns	7 ns	1.76 *	32.88 *
Centeno	LD	757	562	20	14	1.37	7.46
	SD	736 ns	560 ns	22 ns	17 ns	1.31 ns	8.03 ns
2019							
Trigo	LD	481	200	47	19	2.40	34.23
	SD	805 **	358 ***	42 ns	19 ns	2.20 ns	27.56 *

La madurez de cosecha (Z 94) fue determinada según Zadoks et al. (1974). La sigla "pl", "esp", "espg" y "Gn" corresponden a planta, espiga o panícula, espiguilla y grano respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

Al momento del muestreo final, en ambos tratamientos todos los ejes pre-tratamiento eran fértiles (Tabla suplementaria 4.5). En ninguna de las especies se evidenció cambio en el peso y número de los componentes de la biomasa reproductiva en estos ejes (Fig. 4.10; Fig. suplementaria 4.7; Tabla suplementaria 4.5). Por otro lado, la biomasa reproductiva de los ejes post-tratamiento tuvieron una tendencia similar a los cambios registrados en la totalidad de los ejes por planta bajo SD post-antesis. En los ejes post-tratamiento en trigo (2019) y avena, las plantas expuestas bajo SD incrementaron la biomasa reproductiva y el peso de los granos en relación a los LD (Fig. 4.10). El peso individual de los granos disminuyó en los SD en trigo (2019), y lo opuesto se evidenció en avena (Tabla suplementaria 4.6). Bajo SD en trigo y cebada aumentó el número de ejes post-tratamiento fértiles, mientras que también en trigo y avena se registró un incremento del número de ejes post-tratamiento no fértiles en relación a los LD (Tabla suplementaria 4.4). En los ejes post-tratamiento fértiles, se generó un mayor número de granos por planta en trigo y avena, y un incremento de espiguillas por planta en trigo y cebada bajo SD en comparación a plantas expuestas bajo LD (Tabla suplementaria 4.6). En plantas de trigo (2018) y cebada tratadas bajo SD en los ejes post-tratamiento disminuyó el número de granos por espiga y de granos por espiguilla en comparación del tratamiento en LD. En forma contraria, el número de granos y espiguillas por panícula, y granos por espiguillas aumentó en plantas de avena expuestas bajo SD en contraste a los LD (Tabla suplementaria 4.6).

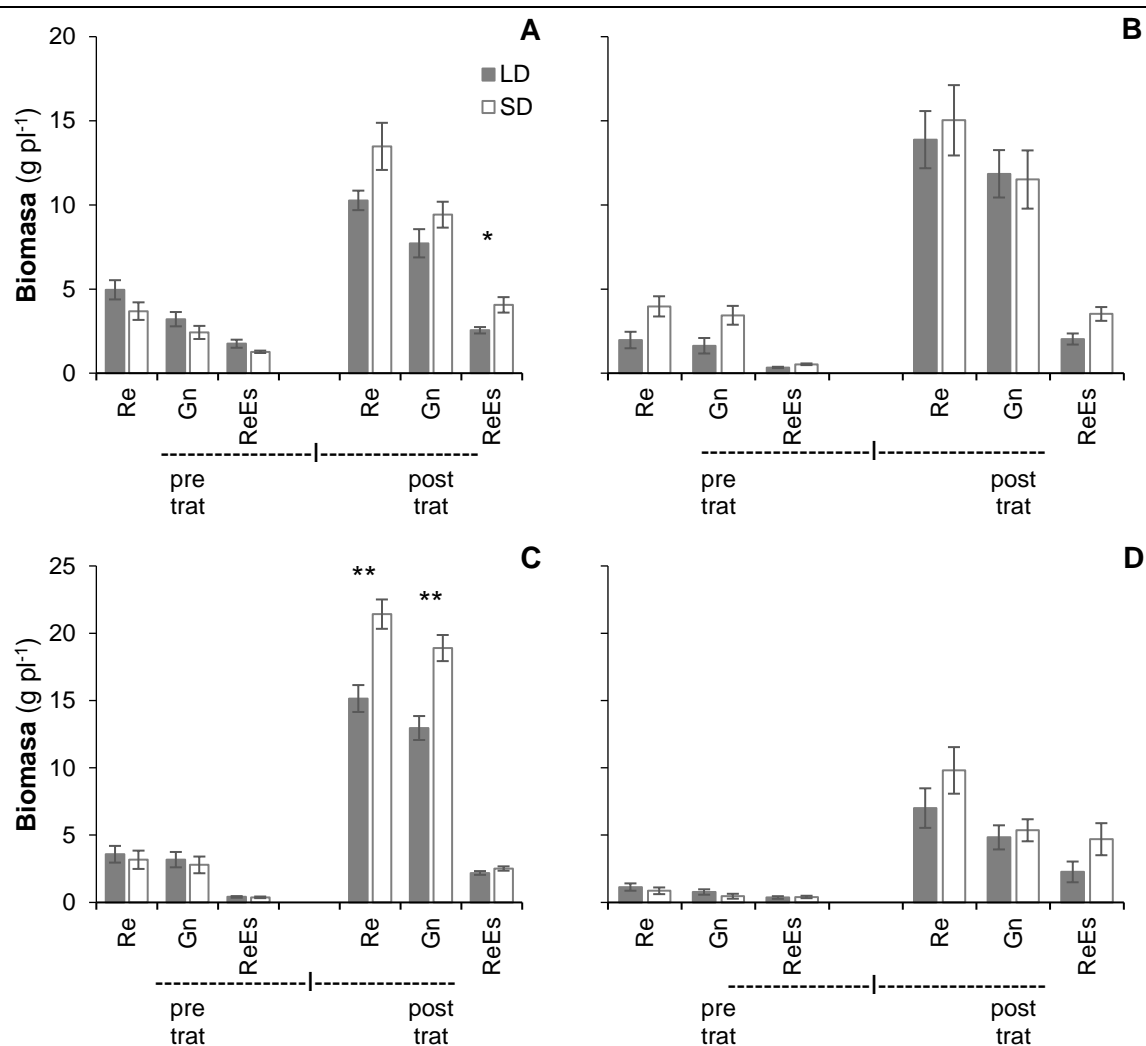


Figura 4.10. Biomasa reproductiva (Re), de granos (Gn) y del resto de espigas o panículas (ReEs) a madurez de cosecha (Z 94) considerando los ejes pre-tratamiento (pre trat) y post-tratamiento (post trat) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. La biomasa reproductiva incluye peso de granos y resto de espiga o panícula; la biomasa resto de espiga incluye peso de raquis, glumas y aristas de espiga o panícula. En la parte superior del gráfico se indican estadios fenológicos según escala de Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

4.3.5. Modificación de las tasas de crecimiento y partición de la biomasa durante post-antesis

En el experimento del año 2018 la biomasa total (conjunto de biomasa vegetativa y biomasa reproductiva) producida entre antesis (Z 64-65) y el muestreo intermedio se incrementó significativamente un 49 % en plantas de centeno expuestas bajo SD en relación de LD (Fig. 4.11). En consecuencia, en centeno la tasa promedio de crecimiento relativo (RGR) y la tasa promedio de crecimiento absoluto (AGR) por planta fue mayor bajo SD (Tabla 4.5). En trigo, cebada y avena no se registraron cambios en la producción de biomasa y en las tasas de crecimiento entre tratamientos en este período (Fig. 4.11; Tabla 4.5).

En ambos años de experimentos en todas las especies, la biomasa total a madurez de cosecha (Z 94) considerando todos los ejes se incrementó en plantas expuestas bajo SD en comparación de LD (Fig. 4.11; Fig. suplementaria 4.8). El mayor aumento en los SD se evidenció en trigo (2019) y centeno siendo ca. 60%, mientras que en trigo (2018), cebada y centeno fue del orden del 27-37%. En ninguna especie se registraron cambios en la biomasa total entre tratamientos en los ejes pre-tratamiento; en cambio se observó un aumento en la biomasa total en los ejes post-tratamiento en todas las especies bajo SD en relación a los LD (Fig. 4.12). En el experimento del año 2018, la RGR y AGR durante el período comprendido entre muestreo intermedio y la madurez de cosecha disminuyó en trigo, avena y centeno expuestos bajo SD en comparación de los LD (tabla 4.5). Por otro lado, considerando todo el período de post-antesis, en el experimento del año 2018 en trigo, avena y centeno la RGR disminuyó en SD, mientras que la AGR no tuvo cambios entre tratamientos (Tabla 4.5). En forma opuesta, al considerar toda la post-antesis en trigo del experimento del año 2019, la RGR no se modificó entre tratamientos, mientras que la AGR aumentó en los SD (Tabla 4.5).

A madurez de cosecha en las especies trigo, cebada y centeno la biomasa total particionada en granos y particionada en la biomasa reproductiva (*i.e.*, granos + resto de espiga) disminuyó ante la exposición bajo SD en comparación de los LD (Tabla 4.6). En sentido contrario, en avena la partición en granos y en la biomasa reproductiva aumento en plantas bajo los SD (Tabla 4.6).

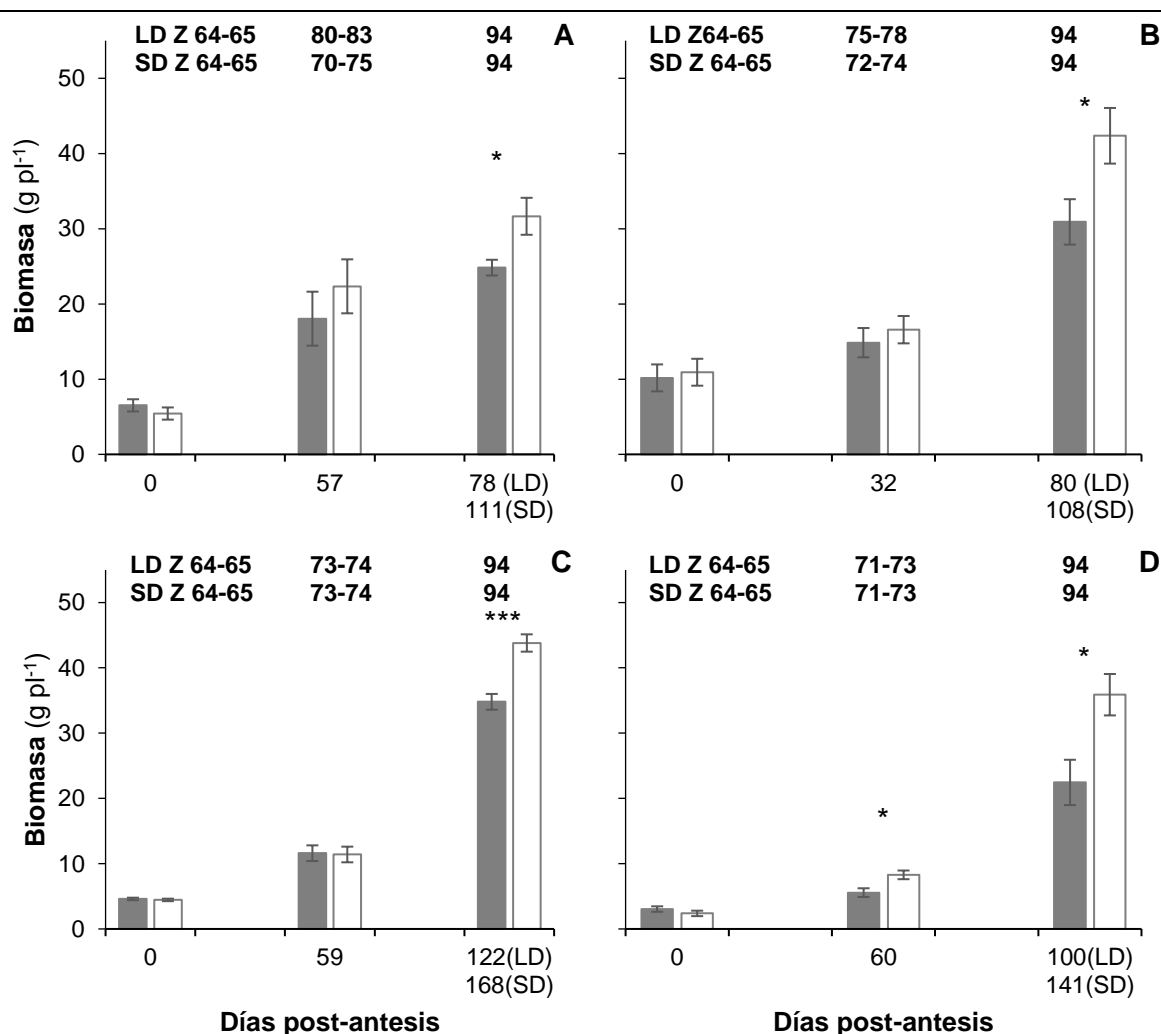


Figura 4.11. Biomasa total considerando todos los ejes en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. La Biomasa total incluye biomasa vegetativa y reproductiva. En la parte superior del gráfico se indican estadios fenológicos según escala de Zadoks et al. (1974). Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (57, 32, 59 y 60 dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzada la madurez de cosecha (Z 94) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla 4.5. Tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de crecimiento de absoluto (AGR) durante el periodo antesis - muestreo intermedio, muestreo intermedio - madurez de cosecha y antesis - madurez de cosecha en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesto en tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019

Año	Tratamiento	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)
2018							
		Antesis - 57 dpa		57 dpa-madurez de cosecha		Antesis - madurez de cosecha	
Trigo	LD	18.4	211.7	15.0	323.1	18.2	241.7
	SD	22.8	287.1	6.2	172.4	14.9	231.3
		ns	ns	**	*	**	ns
		Antesis - 32 dpa		32 dpa- madurez cosecha			
Cebada	LD	10.3	134.5	14.9	334.6	13.2	254.5
	SD	13.5	188.6	12.1	339.2	12.7	294.6
		ns	ns	ns	ns	ns	ns
		Antesis - 59 dpa		59 dpa- madurez de cosecha			
Avena	LD	15.8	120.1	17.4	368.1	16.7	248.1
	SD	15.0	116.7	12.3	297.3	13.5	233.9
		ns	ns	***	*	***	ns
		Antesis- 60 dpa		60 dpa- madurez de cosecha			
Centeno	LD	11.7	47.5	34.6	422.5	21.0	197.3
	SD	18.4	92.9	17.7	340.7	18.1	235.3
		*	*	***	ns	*	ns
2019							
Trigo	LD					17.1	322.6
	SD					17.6	466.0
						ns	*

La antesis y madurez de cosecha se corresponde a Z 64-65 y Z 94 respectivamente según la escala fenológica de Zadoks et al. (1974). Los muestreos intermedios fueron realizados a los 57, 32, 59 y 60 días post-antesis (dpa). En trigo el muestreo intermedio correspondió al estadio de desarrollo Z 80-83 (LD) y Z 70-75 (SD), en cebada a Z 75-78 (LD) y Z 72- 74 (SD), en avena a Z 73-74 (ambos tratamientos) y en centeno Z 71- 73 (ambos tratamientos). La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

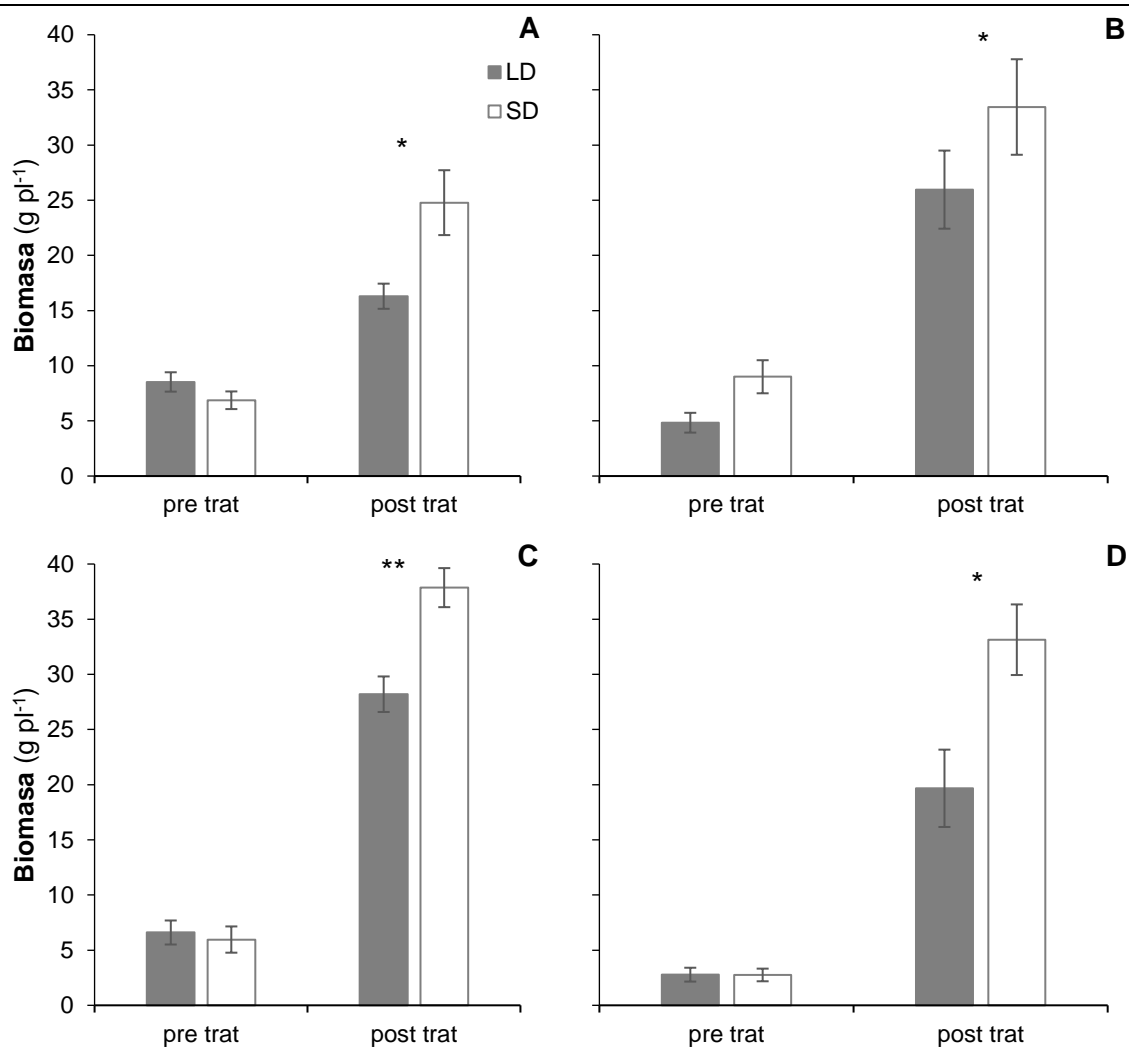


Figura 4.12. Biomasa total a madurez de cosecha (Z 94) considerando los ejes pre-tratamiento (pre trat) y post-tratamiento (post trat) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. La Biomasa total incluye biomasa vegetativa y reproductiva. En la parte superior del gráfico se indican los estadios fenológicos según la escala de Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla 4.6. Partición de biomasa a granos y a biomasa reproductiva a madurez de cosecha (Z 94) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie	Tratamiento	Peso de granos / Biomasa total	Biomasa reproductiva/ Biomasa total
2018			
Trigo	LD	0.44	0.61
	SD	0.38 **	0.54 **
Cebada	LD	0.43	0.51
	SD	0.36 **	0.45 *
Avena	LD	0.46	0.54
	SD	0.49 **	0.56 *
Centeno	LD	0.25	0.38
	SD	0.16 *	0.30 *
2019			
Trigo	LD	0.50	0.63
	SD	0.41 **	0.56 *

La Biomasa reproductiva incluye biomasa de semillas y de resto de espiga o panícula; la Biomasa total incluye la biomasa vegetativa y reproductiva. Madurez de cosecha determinada según escala fenológica de Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

4.4. DISCUSIÓN

4.4.1. Demora del desarrollo reproductivo y de la senescencia foliar en fotoperíodo corto durante post-antesis

La exposición a fotoperíodos cortos (SD) posterior a la antesis en los cereales de invierno (trigo, cebada, avena y centeno) alargaron la duración del período antesis (Z 64-65) a madurez de cosecha (Z 94) a nivel de planta entera (*i.e.*, considerando la totalidad de los ejes). La mayor duración del período de post-antesis fue producto de la ralentización en el desarrollo reproductivo en plantas expuestas bajo SD. Los efectos de los SD posteriores a antesis en estas especies modificando la duración de esta etapa, se han estudiado sobre todo en condiciones no controladas (*i.e.*, campo), en los cuales a partir de fechas contrastantes de siembra se lograron fotoperíodos más cortos y fríos (invierno-primavera) *versus* fotoperíodos más largos y cálidos (primavera-verano) en post-antesis (Marcello & Single 1971; Angus *et al.* 1981; Colville & Frey 1986; Porter *et*

al. 1987; Chmielewsky & Kohn 2000; Miralles *et al.* 2007; Alzueta *et al.* 2014). En estos trabajos se reportó que los cambios en la duración de la etapa de post-antesis respondían a la temperatura y no a un efecto del fotoperíodo. Sin embargo, en condiciones semicontroladas (*i.e.*, invernáculo) donde se desagregó realmente el efecto del fotoperíodo y la temperatura, se informó que en trigo (Thorne *et al.* 1968), cebada (Guitard 1960) y avena (Klinck & Sim 1976) los SD en post-antesis prolongaban este período del desarrollo reproductivo. Los resultados en este capítulo, consistentemente con los trabajos previamente mencionados, indican que en estos cereales existe un efecto del fotoperíodo sobre la duración de la post-antesis, al margen de la influencia de la temperatura.

La prolongación de la post-antesis a nivel de planta entera podría ser únicamente el reflejo de la demora reproductiva en ejes post-tratamientos sin cambios en el desarrollo reproductivo de los granos en los ejes pre-tratamientos (*i.e.*, ejes en antesis al momento del inicio del tratamiento); los ejes post-tratamiento están expuestos previos a antesis bajo SD por lo que una demora en el desarrollo reproductivo de los mismos podría ser producto de la combinación de un efecto del fotoperíodo en pre-antesis y post-antesis (*i.e.*, en estos ejes no se desagregó el efecto del fotoperíodo durante el desarrollo reproductivo previo y posterior a antesis). En relación a la demora del desarrollo reproductivo en SD pre-antesis existen numerosos trabajos que reportan esta respuesta (Aspinall 1966; Thorne *et al.* 1968; Halse & Weir 1970; Sampson & Burrows 1972; Allison & Daynard 1976; Klinck & Sim 1976; Hammes & Marshall 1980; Fowler 1983; Ellis & Russell 1984; Bleken & Skejelvag 1986; Angus *et al.* 1981; Slafer & Rawson 1996; Miralles & Richard 2000; Miralles *et al.* 2000, 2001; Gonzales *et al.* 2003 a; Peltonen-Sainio *et al.* 2003; Alzueta *et al.* 2014; Perez-Gianmarco *et al.* 2018; Kippes *et al.* 2020). En trigo, cebada y centeno, además de la demora en el desarrollo reproductivo en los ejes post-tratamiento (Fig. 4.4.), se evidenció una demora del desarrollo reproductivo de los granos en los ejes pre-tratamiento (al igual que a nivel de planta entera) (Fig. 4.1, 4.3), y esto es consistente con una verdadera demora en el desarrollo reproductivo posterior a antesis. En cambio, en avena la prolongación de la post-antesis a nivel de planta entera no coincidió con una demora en el desarrollo reproductivo de los granos posterior a antesis en los ejes pre-tratamiento, lo que indica que la demora en el desarrollo reproductivo solo ocurrió en los ejes post-tratamiento. En avena se reportó que la combinación de SD previo y posterior a antesis durante el desarrollo reproductivo demoraban el mismo (Klinck & Sim 1976). Por lo tanto, la demora en el desarrollo reproductivo en los ejes post-tratamiento observados en esta tesis podrían ser producto de la combinación de los efectos del fotoperíodo previo y posterior a antesis.

En los cereales de invierno los SD post-antesis demoraron la senescencia foliar evidenciado por un retardo en la degradación de las clorofilas de las hojas y por la persistencia en la asimilación de dióxido de carbono (An). En trigo, avena y centeno el atraso durante post-antesis de la degradación de las clorofilas estuvo acompañada por la permanencia de la An, lo que indica que bajo SD en estas especies la demora de la senescencia foliar fue del tipo funcional (*i.e.*, no cosmético, Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Hörtensteiner 2009; Gregersen *et al.* 2013). En cebada en SD la degradación de las clorofilas no estuvo acompañada por la persistencia en la An, lo que se podría interpretar como una demora de la senescencia no funcional (*i.e.*, de tipo cosmético, Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Hörtensteiner 2009; Gregersen *et al.* 2013). Sin embargo, al igual que en las otras especies, en cebada bajo SD aumentó la producción de la biomasa por planta durante la post-antesis (Fig. 4.11), lo que sugiere que la asimilación de carbono se mantuvo a nivel del canopeo, no así en el tallo principal, y la demora de la senescencia sería principalmente del tipo funcional considerando la planta entera. Por otro lado, la demora de la senescencia foliar bajo SD a nivel de planta entera o del canopeo (*i.e.*, considerando todos los ejes) podría ser únicamente un reflejo de la demora en el desarrollo de los ejes post-tratamiento como se mencionó previamente. Sin embargo, la demora en la degradación de las clorofilas en todas las especies en este capítulo no solo se registró en los ejes post- tratamiento (Fig. 4.4), sino también en los ejes pre-tratamiento (Fig. 4.3). Los anteriores resultados implican que tanto a nivel de planta entera (*i.e.*, > 50 % de los ejes de la planta están en antesis) (Fig. 4.1) como en ejes individualizados (*i.e.*, ejes pre-tratamiento que están en antesis al inicio del tratamiento), los SD posteriores a antesis demoran la senescencia foliar.

En los cereales de invierno la progresión del desarrollo reproductivo de los granos está asociado al avance de la senescencia de las hojas (Evans & Rawson 1970; Feller 1979; Evans 1983; Biswal & Mandal 1988; Fangmeier *et al.* 2000; Distelfeld *et al.* 2004; Gong *et al.* 2005; Bogard *et al.* 2011); durante la senescencia foliar, las proteínas de las membranas tilacoidales asociadas a las clorofilas (Evans & Seeman 1989, Humbeck & Krupiska 2003; Zelisko & Jackowski 2004; Gregersen *et al.* 2008; Evans & Clacke 2019) y proteínas solubles como la Ribulosa 1,5- Bisfosfato Carboxilasa/ Oxigenasa (Rubisco, enzima de función carboxilativa crucial en plantas C₃) (Wittenbach 1979; Wittenbach *et al.* 1982; Evans & Seemann 1984; Evans 1989; Evans & Clarke 2019), se degradan liberando nitrógeno (y otros elementos) que puede ser removilizado a los granos en crecimiento (Welch *et al.* 1980; Simpson *et al.* 1983; Evans & Seeman 1989 ; Humbeck & Krupiska 2003; Mickelson *et al.* 2003; Zelisko & Jackowski 2004; Gregersen *et al.* 2008; Evans & Clacke 2019). Por lo tanto, la exposición de las plantas

bajo SD posteriores a antesis demorando el desarrollo reproductivo, podrían estar postergando los procesos degradativos en las hojas y en consecuencia provocando la demora funcional de la senescencia foliar. El anterior mecanismo indica que el fotoperíodo actuaría en forma indirecta sobre la senescencia foliar, *i.e.*, mediada por el desarrollo reproductivo. En el tallo principal en trigo y centeno (Fig.4.5), y en los ejes pre-tratamiento en trigo, cebada y centeno (Fig. 4.3) (ejes que están en antesis al momento de iniciar los tratamientos fotoperiódicos) se evidenció la demora en el desarrollo reproductivo de los granos asociada a la demora de la senescencia foliar, lo que indica un efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia; también en todas las especies a nivel de planta entera (> 50% de los ejes en antesis al inicio del tratamiento) (Fig. 4.1) y en ejes post-tratamientos (ejes con estadio previo a antesis al inicio del tratamiento) (Fig. 4.4) existió una demora del desarrollo reproductivo asociado con la demora de la senescencia foliar, lo que sugiere también un efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia de las hojas. Sí bien el efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia foliar explica gran parte de los resultados expresados en este capítulo, existen síntomas de la demora de la senescencia, particularmente en avena que no pueden ser asociados a una diferencia en el desarrollo reproductivo. En esta especie, tanto en el tallo principal como en los ejes pre-tratamiento la menor disminución en la degradación de las clorofilas bajo SD post-antesis se observaron sin cambios en el estadio fenológico (*i.e.*, desarrollo de los granos) (Fig. 4.5, 4.3); además, la persistencia de An bajo SD en tallo principal se comenzó a registrar previamente a la demora en el desarrollo reproductivo de los granos (Fig. 4.6). Estos resultados sugieren que el fotoperíodo también podría tener un efecto directo sobre la senescencia foliar, *i.e.*, no mediado por el desarrollo reproductivo de los granos. En base a estos resultados es pertinente profundizar en el estudio del efecto directo del fotoperíodo sobre la senescencia en estas especies con algún ensayo manipulativo similar al desarrollado en el capítulo V de esta tesis.

4.4.2. Aumento de la biomasa y cambio en la tasa de crecimiento en fotoperíodo corto durante post-antesis

Los cereales de invierno en estudio bajo SD aumentaron la producción de biomasa vegetativa por planta durante la post-antesis. Este incremento se observó principalmente en los ejes post-tratamiento y fue consecuencia tanto de un mayor peso de los tallos como de las hojas totales (conjunto del peso de hojas secas y verdes) en las plantas expuestas a los SD (Fig.4.7; Fig. suplementaria 4.6). La mayor producción

de la biomasa vegetativa por planta en SD podría deberse a un incremento en el número de ejes (*i.e.*, ejes post-tratamiento) y/o a ejes con una mayor producción de biomasa vegetativa (*i.e.*, incremento del peso de tallo y/o hojas por macollo) durante este período. En trigo y cebada bajo SD predominó el aumento en el número de ejes por planta en relación a la modificación de la biomasa vegetativa de cada eje; en cambio en centeno se observó lo opuesto: bajo SD se incrementó el peso de tallo y hojas por eje (soportado principalmente por el incremento en los ejes post-tratamiento), sin cambios en el número de ejes por planta. Previo a la antesis en fotoperíodos naturales durante la etapa de macollaje (*i.e.*, generación y crecimiento de los macollos o ejes) el tallo principal y macollos primarios (ejes de mayor jerarquía) son el destino principal de los asimilados, lo que aumenta la mortandad de los macollos de menor jerarquía, disminuyendo consecuentemente el número de los mismos en las plantas (Lauer & Simmons 1985; Davidson & Chevalier 1990; Chafai *et al.* 1992, Kebrom *et al.* 2013; Dreccer *et al.* 2013). Dada la demora de la senescencia funcional bajo SD en post-antesis, presumiblemente existiría una mayor disponibilidad de asimilados que aumentaría la supervivencia de ejes (macollos) de menor jerarquía, lo que explicaría el incremento en el número de los mismos por planta en trigo y cebada. Sin embargo, la generación de ejes no solo está controlada por la disponibilidad de asimilados, sino que otros factores como la concentración de hormonas participan en este proceso (Evers *et al.* 2006; Assuero & Tognetti 2010; Assuero *et al.* 2012; Evers & Vos 2013; Kebrom *et al.* 2013; Alqudah *et al.* 2016). En particular se reportó que las citocininas son un promotor de la generación de ejes en las gramíneas (Suge & Iwamura 1993; Wang & Below 1996; Chen *et al.* 1998; Kebrom *et al.* 2013; Korpna *et al.* 2020; Shang *et al.* 2021). En conjunto con estos trabajos y con el registro que en la especie de “día corto” soja en fotoperíodos no inductivos en post-antesis aumentó la concentración de citocininas foliares (ver Cap. V), no se puede descartar que los SD en cereales participen en la generación de ejes a través de la modificación de los niveles hormonales (*v.g.*, citocininas). Finalmente, en centeno expuesto bajo SD en post-antesis el aumento en la biomasa vegetativa producto del incremento del peso individual de los ejes ocurrió sin modificaciones en la biomasa reproductiva. En estos cereales posterior a antesis el incremento de la biomasa reproductiva (representada sobre todo por el incremento del peso de los granos, *v.g.*, Ellen 1993a) depende de la removilización de asimilados desde los tallos (fructanos) (Ellen 1993a; Blacklow & Incoll 1981; McCaig & Clarke 1982; Pheloung & Siddique 1991; Bonnet & Incoll 1992; Dreccer *et al.* 2013) y de la fotosíntesis en ese período (Jennings & Shibles 1968; Takeda & Udagawa 1976; Bort *et al.* 1994; Tambussi *et al.* 2007, 2021; Maydup *et al.* 2010; Serrago *et al.* 2013). Por lo tanto, dado que la An de las hojas se prolongó durante post-antesis en SD, es posible que el aumento en la biomasa

vegetativa de los ejes responda a una menor removilización de fructanos desde los tallos.

Los SD en post- antesis condujeron a un aumento de la biomasa reproductiva en trigo (2019) y avena, y esto se correspondió principalmente al aumento del peso de los granos por planta. En los cereales en estudio el peso de los granos por planta (*i.e.*, rendimiento) depende principalmente del número de granos por planta (o por área de suelo) y en menor grado, del peso individual de los granos (Chmielewsky *et al.* 2000; Hawkesford *et al.* 2013; Slafer *et al.* 2014; Mahadevan *et al.* 2016; Ferrante *et al.* 2017; Alvarez Prado *et al.* 2017). Los SD en post- antesis aumentaron el número de granos por planta en trigo (2018 y 2019) y avena, aunque los determinantes de este componente, *i.e.*, número de espigas o panícula y número de granos por espiga (Slafer *et al.* 2014) o panícula (Mahadevan *et al.* 2016), variaron entre estas especies (Tabla 4.4). En trigo, los SD en post-antesis aumentaron el número de granos por planta producto principalmente del incremento en el número de espigas generadas (*i.e.*, ejes fértiles post-tratamiento; Tabla suplementaria 4.4), ya que no se observaron cambios entre tratamientos o incluso bajo SD disminuyó el número de espiguillas y grano por espiga, y granos por espiguilla. En avena, por otra parte, los SD post-antesis no aumentaron el número de panículas por planta (*i.e.*, ejes fértiles post-tratamiento), y la modificación del número de granos se produjo a partir de un leve aumento en el número de espiguillas y de granos por panícula, y de un marcado incremento del número de granos generados por espiguilla. En ambas especies el incremento del número de granos por planta en SD y la modificación en los determinantes de los componentes de este número (previamente mencionados) se sostuvieron por el mismo cambio en los ejes post-tratamiento (sin modificación debida al fotoperíodo en los ejes pre-tratamiento).

El peso individual de los granos en estas especies está determinado por el peso potencial de los granos (*v.g.*, tamaño de carpelos, cantidad de células endospermáticas, ubicación en la espiga) y por la tasa y duración del llenado de los mismos (Nass & Reiser 1975; Brocklehurst 1977; Sofield *et al.* 1977; Sayed & Gadallah 1983; Calderini *et al.* 1999; Calderini & Reynolds 2000; Calderini & Ortiz-Monasterio 2003; Baillot *et al.* 2018; Brinton & Uauy 2018). El llenado a su vez depende de la asimilación en las hojas y en la propia espiga o panícula durante este período (Jennings & Shibles 1968; Takeda & Udagawa 1976; Bort *et al.* 1994; Tambussi *et al.* 2007, 2021; Maydup *et al.* 2010; Serrago *et al.* 2013), y de asimilados acumulados en tallos, hojas y resto de espiga previo al llenado, los cuales se removilizan hacia los granos (Wych *et al.* 1982; Bonnet & Incoll 1991; Ellen 1993a, b; Gebbing *et al.* 1998). En trigo, avena y centeno los SD post-antesis prolongaron el período de la asimilación neta en las hojas (*i.e.*, se produjo

una demora funcional de la senescencia) junto al aumento de la biomasa vegetativa acumulada durante este período. En avena bajo SD el peso individual de los granos por planta se incrementó, mientras que el peso de tallos y hojas por eje no variaron entre tratamientos, lo que sugiere que la removilización (desde tallos y hojas) no estaría afectada por el fotoperíodo, y que el aumento del peso del grano se debería principalmente a la persistencia de la asimilación de las hojas durante la post-antesis. En forma contraria, en plantas de centeno expuestas bajo SD se observó un incremento en el peso de tallo y hojas por eje sin modificación en el peso individual de los granos entre tratamientos, lo que indicaría que en los SD quedarían asimilados sin retranslocarse a los granos. Por último, en trigo (2019) el peso individual de los granos junto con el peso individual de los ejes (en particular peso de tallo) disminuyó en los SD, por lo que la posible mayor cantidad de asimilados (*i.e.*, persistencia de An) se podría estar redirigiendo a órganos en desarrollo, *v.g.*, nuevos ejes (Lauer & Simmons 1985; Gu & Marshall 1988; Tausz-Posch *et al.* 2015), a las raíces (Gebbing *et al.* 1998; Aranjuelo *et al.* 2012) o consumiéndose en la respiración metabólica (Chafai *et al.* 1992; Aranjuelo *et al.* 2011, 2012; Sánchez-Bragado *et al.* 2016). Si bien la movilización de asimilados dentro de la planta escapa de los objetivos de este capítulo (y de la Tesis), las modificaciones generadas por los SD post-antesis sobre el destino final de los mismos abren interrogantes para indagar en futuros estudios.

Los SD en post-antesis en todas las especies produjeron un aumento en la biomasa total (conjunto de biomasa vegetativa y reproductiva) y un incremento en la partición de la biomasa a los órganos vegetativos en relación a los órganos reproductivos (Tabla 4.6). Por otro lado, también el ritmo diario de producción de biomasa total durante la post-antesis, estimada por la tasa de crecimiento relativo (RGR) y la tasa de crecimiento del absoluto (AGR), estuvo modificado por los SD (Tabla 4.5). En el experimento del año 2018 en plantas de trigo, avena y centeno bajo SD la RGR disminuyó, lo que implica que el incremento en la biomasa aérea total necesariamente estuvo determinado por una mayor duración del período de crecimiento en post-antesis. En el experimento del año 2019 sumado a una mayor cantidad de días acumulando biomasa, el aumento en AGR explica el incremento en SD de la biomasa total en post-antesis. El efecto de los SD demorando el desarrollo reproductivo y de esta forma prolongando el período de crecimiento en post-antesis aumentando la biomasa, es un efecto indirecto del fotoperíodo (*i.e.*, mediado por el desarrollo reproductivo) sobre la producción de biomasa durante la post-antesis. En los cereales de invierno se reportó que los órganos reproductivos posterior a antesis se vuelven un destino preferencial de los asimilados lo que aminora o directamente detiene el crecimiento de los órganos vegetativos (Blacklow & Incoll 1981; Simpson *et al.* 1983; Pheloung & Siddique 1991;

Bonnet & Incoll 1992; Ellen 1993a). Si el efecto de los SD sobre el crecimiento en post-antesis fuese explicado únicamente a partir de la demora en el desarrollo reproductivo (efecto indirecto del fotoperíodo), la biomasa vegetativa continuaría creciendo en los SD y la tasa de crecimiento de la biomasa total sería similar entre tratamientos (*i.e.*, solo cambiaría la partición de la biomasa entre tratamiento). En ambos años tanto considerando sub-períodos en la post-antesis como toda la duración de la misma, las tasas de crecimiento fueron modificadas por los SD. Esto implica que los SD modifican la tasa de producción de biomasa total en post-antesis parcialmente independiente del desarrollo reproductivo, *i.e.*, existiría un efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de biomasa. En las especies de “día corto” para la inducción floral como la soja (Cap. II, V), la quínoa y el amaranto (Cap. III) también se había registrado la modificación de la producción de la biomasa total producto de un efecto indirecto y directo del fotoperíodo, por lo cual la influencia de los fotoperíodos no inductivos posterior a antesis podría ser una respuesta conservada (de cierta generalidad) entre especies.

4.5. CONCLUSIONES

Los SD aplicados posteriormente a la antesis en los cereales de invierno trigo, cebada, avena y centeno demoran el desarrollo reproductivo y por lo tanto prolongan la duración de este período. Junto al alargamiento de la etapa post-antesis, existe una demora en la degradación de las clorofilas foliares y la persistencia en la asimilación de dióxido de carbono (demora funcional de la senescencia) y un incremento concomitante de la producción de biomasa. Parte de la demora funcional y aumento de la producción de la biomasa parece ser explicada por un lado por el efecto del fotoperíodo sobre el desarrollo reproductivo (*i.e.*, efecto indirecto del fotoperíodo), y por otro, podría existir un efecto del fotoperíodo que actuaría independientemente del desarrollo reproductivo (*i.e.*, efecto directo del fotoperíodo).

ASPECTOS MECANÍSTICOS DE LAS RESPUESTAS A FOTOPERÍODOS NO INDUCTIVOS POST-ANTESIS EN SOJA: EFECTOS INDIRECTOS *VERSUS* DIRECTOS Y CAMBIOS HORMONALES

5.1. INTRODUCCIÓN

El fotoperíodo es uno de los principales factores ambientales que determinan el desarrollo y crecimiento en soja (*Glycine max* (L.) Merr) (Hodges & French 1985; Grimm *et al.* 1993; Piper *et al.* 1996; Setiyono *et al.* 2007). Tal como se mencionó en los capítulos I y II, la capacidad de percibir y responder a cambios en el fotoperíodo induciendo la floración en esta especie ha permitido su adaptación a diferentes latitudes (Zhang *et al.* 2007; Zhai *et al.* 2014; Mourtzinis & Conley 2017; Yang *et al.* 2019). En cultivares de sensibilidad intermedia (grupo de madurez (GM) III-VII¹) y muy sensibles (GM VIII - X) al fotoperíodo, la floración se acelera en fotoperíodos cortos (SD), *i.e.*, los días a floración aumentan superado un determinado umbral fotoperiódico (respuesta del tipo cuantitativas) o directamente no sucede la floración (respuesta del tipo cualitativa) (Borthwick & Parker 1938; Caffaro & Nakayama 1988, Caffaro *et al.* 1988; Thomas & Vince-Prue 1997b; Zhang *et al.* 2001; Jiang *et al.* 2014; Wu *et al.* 2015).

En soja los fotoperíodos largos (LD) posponen la floración cuando están presentes en la etapa vegetativa (Hodges & French 1985; Caffaro *et al.* 1988; Grimm *et al.* 1993; Summerfield *et al.* 1998; Piper *et al.* 1996); sin embargo, el efecto de los LD no afecta únicamente la duración de la pre-floración, ya que los mismos también prolongan la duración posterior a la floración/ antesis² (R1 según Fehr & Caviness 1977) (Raper & Thomas 1978; Guamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001; Nico *et al.* 2015). Junto a la mayor duración de la post-antesis, bajo LD se incrementa la producción de la biomasa vegetativa (Thomas & Raper 1976; Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988, Morandi *et al.* 1988), del peso del tallo principal (Guamet & Nakayama 1984a, b; Guamet *et al.* 1986; Morandi *et al.* 1988) y del número de nudos de tallo principal y ramificaciones (Guamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016). Por otro parte, bajo LD post- antesis, también aumenta el número de vainas (*i.e.*, frutos), producto tanto de la mayor generación de nudos (*i.e.*, sitios

¹ Para una descripción de los grupos de madurez en soja ver el capítulo I: Introducción General, objetivos e hipótesis de trabajo de esta tesis.

² En soja, la floración de acuerdo a la escala fenológica adoptada (Fehr & Caviness 1977) en esta tesis y ampliamente utilizada en la literatura especializada, se determina en el momento de aparición de una flor abierta, *i.e.* antesis (ver descripción más detallada en Cap. II); por lo cual en esta escala no existe una diferencia entre la observación de las flores (floración) en la planta y su posterior apertura (antesis). Dado que en todas las especies utilizadas en esta tesis los tratamientos fotoperiódicos se impusieron posterior a la antesis, para soja se adopta también de aquí en más el término post-antesis en lugar de post-floración.

potenciales de generación de vainas) (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005; Kantolic *et al.* 2007, 2013; Nico *et al.* 2015, 2016), como de nudos portando una mayor cantidad de vainas (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2016). Congruentemente a estos cambios, se incrementa el número de granos³ por planta (Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988) y por unidad de área (Kantolic & Slafer 2001, 2005; Kantolic *et al.* 2007, 2013; Nico *et al.* 2015). En general bajo LD disminuye el peso individual de los granos (Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984 a, b; Morandi *et al.* 1988, Kantolic & Slafer 2005; Kantolic *et al.* 2007, 2013), por lo que el aumento en el número de granos no siempre se observa junto a un aumento del rendimiento (*i.e.*, peso de granos por planta o unidad de área) (Guiamet *et al.* 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Nico *et al.* 2015).

La mayoría de los cambios en la producción de biomasa mencionados previamente en los LD post- antesis en soja están asociados a la demora en el desarrollo reproductivo de las vainas y granos, por lo cual el fotoperíodo actúa mediado por el desarrollo reproductivo (*i.e.*, efecto indirecto del fotoperíodo) (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005; Nico *et al.* 2015); sin embargo, algunos efectos de los LD post-antesis no están relacionados a la demora en el desarrollo reproductivo de vainas y granos, y son efectos directos del fotoperíodo (Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988). En este sentido, al menos durante la primera parte de la post-antesis, la remoción de las vainas y la exposición bajo LD incrementó la longitud de las ramificaciones y del área foliar en relación a plantas desfrutadas (*i.e.*, sin vainas) y expuestas bajo SD (Caffaro & Nakayama 1988). En forma similar, se registró un efecto directo de los LD modificando la tasa de partición de asimilados (disminución) hacia los granos durante su llenado (Morandi *et al.* 1988). En el capítulo II de esta tesis se registró que el aumento de la biomasa bajo LD durante la post-antesis se explicaba tanto por una mayor cantidad de días acumulando biomasa (efecto del fotoperíodo mediado por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos o indirecto) como de un cambio en las tasas de producción de biomasa por día (efecto del fotoperíodo no mediado por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos o directo). A partir de estos antecedentes sería pertinente profundizar en el estudio del efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de biomasa en post-antesis en un sistema en que se aisle realmente al fotoperíodo del desarrollo reproductivo de las vainas y granos).

En soja el avance del desarrollo reproductivo ejerce un control correlativo sobre la senescencia de las hojas (Leopold *et al.* 1959; Sinclair & de Witt 1975; Nooden *et al.* 1978, 2004; Nooden & Guiamet 1989). El anterior control es sustentado por la demora de la

³ Con el objetivo de mantener un lenguaje homogéneo y poder comparar entre las especies estudiadas en esta tesis, se nombran las semillas (en soja) y las semillas fusionadas con pericarpio (en quinoa, amaranto, trigo, cebada, avena y "centeno" *Secale cereale* L.) con el término "grano".

senescencia foliar en plantas donde se retrasa el crecimiento de vainas y granos por restricción mecánica (Crafts-Brandner & Egli 1987a; Egli *et al.* 1987; Miceli *et al.* 1995) o directamente las estructuras reproductivas (*i.e.*, flores, vainas, granos) fueron removidas (Leopold *et al.* 1959; Lindoo & Nooden 1976, 1977; Nooden *et al.* 1978, 1990a; Mondal *et al.* 1978; Crafts-Brandner & Egli 1987b). El mecanismo subyacente a este control sería la removilización de fotoasimilados (modelo conocido como “*fuentes- destino*”; Herold 1980; Nooden *et al.* 2004; Dunford 2015) y en particular de Nitrógeno (modelo conocido como “*self-destruction*”; Sinclair & de Witt 1975, 1976) desde las hojas a las vainas y granos en crecimiento. En el capítulo II de esta tesis se determinó que los LD post- antesis retrasaron el desarrollo reproductivo de las vainas y granos junto a una demora del tipo funcional de la senescencia foliar (*i.e.*, demora de la degradación de las clorofilas foliares junto a la menor disminución en la asimilación de dióxido de carbono; Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Hörtensteiner 2009); esto es consistente con la propuesta del control correlativo del desarrollo reproductivo de las vainas y granos sobre la senescencia de las hojas y es un efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia foliar. Sin embargo, también en ese capítulo se registró que el inicio de la disminución de la asimilación de dióxido de carbono (síntoma de la senescencia foliar; Wittenbach 1983; Crafts-Brandner & Egli 1987a, b; Guamet *et al.* 1990) ocurrió en diferentes estadios del desarrollo reproductivo (*i.e.*, independiente del desarrollo de vainas y granos), dependiendo del fotoperíodo al cual las plantas estaban expuestas. En sentido similar se observó, que la remoción de flores y vainas y la exposición bajo LD demoró el “*amarillamiento*” del canopeo en relación a plantas expuestas bajo SD (Han *et al.* 2006). Por lo tanto, sería interesante indagar si bajo LD post- antesis, además de la participación del desarrollo reproductivo en la modulación de la senescencia de las hojas, existe un mecanismo directo del fotoperíodo sobre la senescencia de las mismas (*i.e.*, independiente del desarrollo reproductivo de las vainas y granos).

La senescencia foliar es un proceso controlado en forma compleja en el cual participan las hormonas vegetales (Nooden 2004; Lim *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2017; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). La citocininas son un grupo de hormonas que clásicamente está asociado a la demora de la senescencia de las hojas (Richmond & Lang 1957; Osborne & McCalla 1961; Kaminek & Lustinec 1978; Nooden 1986; Nooden *et al.* 1990b; Badenoch-Jones *et al.* 1996; Gan & Amasino 1995, 1996; Faiss *et al.* 1997; Hallmark *et al.* 2020). En soja la aplicación foliar de citocininas tanto en plantas intactas (Lindoo & Nooden 1978; Nooden *et al.* 1979; Dybing & Lay 1981a, b) como la perfusión en explantos (*i.e.*, segmento de tallo que porta hoja y vainas) (Neumann *et al.* 1983; Garrison *et al.* 1984; Nooden 1986; Nooden & Letham 1993) demoran la senescencia de las hojas. Las citocininas se sintetizan principalmente en raíces y desde allí se mueven a los demás órganos por el xilema (Van Staden & Davey 1979; Garrison *et al.* 1984; Faiss *et al.* 1997). A partir de ello, es que la

demora de la senescencia de las hojas (en plantas donde se removieron las vainas) junto al aumento del contenido de citocininas en el líquido xilemático refuerza la idea de la participación de esta hormona retrasando la senescencia foliar (Nooden *et al.* 1990a, b; Nooden & Letham 1993). También la aplicación de giberelinas en explantos de soja (Nooden 1986) o en hojas desprendidas (Dybing & Yarrow 1984) demora la senescencia foliar; además se registró una interacción con las citocininas, ya que la aplicación conjunta de estas hormonas demoró más la senescencia que la aplicación individual de las mismas (Dybing & Lay 1981a, b; Nooden 1986). Por último, otro grupo de hormonas relacionado con la demora de la senescencia son las auxinas, ya que la aplicación de auxinas sintéticas demoró la senescencia foliar (James *et al.* 1965; Nooden *et al.* 1979); sin embargo, también se reportó que esta misma auxina sintética no tuvo efecto modulando la senescencia de las hojas (Dybing & Lay 1981a, b). Por otro lado, existen otras hormonas vegetales asociadas a la promoción y aceleración de la senescencia foliar. En soja la aplicación de ácido abscísico (ABA) en hojas desprendidas aceleró la senescencia (Guiamet & Giannibelli 1994), mientras que en plantas intactas además de la senescencia de las hojas se aceleró levemente el desarrollo de las vainas (Lindoo & Nooden 1978). También se registró un incremento de la concentración endógena de ABA cuando las hojas ya estaban amarillas (*i.e.*, degradación de las clorofilas avanzada), lo que se asoció a la abscisión foliar en soja (Samet & Sinclair). La aplicación en soja de ácido jasmónico (JA) (Guiamet & Giannibelli 1994) o el incremento de su concentración en las hojas (Bawa *et al.* 2021) se observa junto a la aceleración de la senescencia foliar cuando la misma fue inducida (*v.g.*, por tratamiento de oscuridad, temperatura). Por último, cuando se indujo la senescencia de las hojas en soja la misma se aceleró asociada al incremento en la concentración foliar de ácido salicílico (SA) (Bawa *et al.* 2021); sin embargo, en forma contraria durante el desarrollo natural de la senescencia (*i.e.*, no inducida) la concentración endógena de SA en las hojas disminuyó (Reis Pimenta *et al.* 2016). En relación a lo descrito anteriormente, sería pertinente indagar si en la demora en la senescencia foliar bajo LD registrada en el capítulo II estarían interviniendo las hormonas vegetales.

A partir de la descripción previa los objetivos de este capítulo son determinar: 1 - si en los días largos post- anthesis se modifica la senescencia foliar y la producción de biomasa independientemente del desarrollo reproductivo (efecto directo del fotoperíodo); y 2- si en la demora de la senescencia foliar bajo días largos post-antesis están involucradas distintas hormonas vegetales

5.2 - MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Experimento 1

5.2.1.1. Condiciones de cultivo y tratamientos fotoperiódicos y de desfrutado

Se llevaron a cabo 2 experimentos en condiciones semicontroladas de invernáculo en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE - Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata – CONICET; Argentina, 34° 55´ S, 57° 58´O) durante los años 2018 y 2019. Se utilizaron dos cultivares (cvs.) de soja (*Glycine max* (L.) Merr), Nidera NS 4619 (NS4619) (Nidera Semillas, Argentina) y Williams 82 (United States Department of Agricultura y Illinois Agricultural Experiment Station, Estados Unidos) en el experimento de los años 2018 y 2019 respectivamente. El criterio de elección de estos cvs. fue que pertenecen a grupos de madurez III (Williams 82) y IV (NS4619) de sensibilidad intermedia al fotoperíodo para la floración. Además, Williams 82 es un cv. no modificado genéticamente ampliamente utilizado en investigación y NS4619 es un cv. moderno transgénico de uso habitual en esta región.

Los granos previos a su germinación fueron inoculados con *Bradyrhizobium sp.* (NITRAP MAX – NITRAP SRL., Argentina). Para su germinación se embebieron con agua destilada en vermiculita y permanecieron en cámara termostatzada (24 °C) y oscuridad. Luego de germinadas (evidenciada por la aparición de la radícula), las plántulas se trasplantaron durante la primera mitad de febrero (en ambos años) en contenedores de 7 litros (una planta por contenedor), rellenos con un sustrato de tierra negra. Los contenedores fueron agrupados en bloques y rodeados con contenedores con plantas similares con el objetivo de reducir los efectos de borde. Se realizaron 2 fertilizaciones durante los ensayos con 10 g pl⁻¹ de Nitrofull Emergence (BERTINAT, Argentina) al momento del trasplante y al momento de la antesis (R1 según Fehr & Caviness 1977; ver Cap. II – Tabla 2.1). La temperatura del invernáculo se mantuvo a 19.5 ± 4.1/ 15.7 ± 2.5 ° C temperaturas diurna/ nocturna. El riego se realizó periódicamente (1-3 días) dependiendo de la demanda evapotranspiratoria.

En ambos años de experimento los cvs. de soja fueron expuestos bajo día corto (SD) desde su traspaso a invernáculo para promover la floración (estadio R1). Lograda la floración/antesis, comenzaron los tratamientos fotoperiódicos post-antesis, donde la mitad de la población (bloques) se mantuvo bajo SD (fotoperíodo inductivo, control) y la otra mitad fue trasladada a día largo (LD, fotoperíodo no inductivo) hasta madurez de cosecha (estadio R8). En el experimento del año 2019, a los tratamientos fotoperiódicos se le agregó un tratamiento con desfrutado (SD-va y LD-va). Por lo tanto, este experimento consistió de cuatro tratamientos, que resultan de la combinación de tratamientos fotoperiódicos (LD vs SD) y tratamientos de desfrutado (control intacto vs desfrutado). El desfrutado consistió en eliminar todas las vainas de las plantas desde el momento de su aparición (estadio R3) durante todo

el período post- antesis. El desfrutado se realizó con una periodicidad de 2-3 días. En forma complementaria a los tratamientos descritos en ambos años, se realizaron dos ensayos, donde ambos cvs. fueron mantenidos previo y posterior a antesis bajo SD (SDSD) o LD (LDLD); el objetivo de estos ensayos fue corroborar que estos cvs. eran sensibles al fotoperíodo y respondían a los fotoperíodos utilizados (Tabla suplementaria 5.1).

Los tratamientos fotoperiódicos utilizados se realizaron como se explicó anteriormente en los capítulos III y IV. Brevemente, los SD consistieron en el fotoperíodo natural, y los LD en la prolongación del fotoperíodo natural por luz artificial durante 4 h al momento de la puesta del sol. La salida, puesta de sol y duración del fotoperíodo fue determinada durante ambos experimentos según el Servicio de Hidrografía Naval, Argentina (www.hidro.gov.ar). La fuente de luz artificial consistió en un tubo de diodo emisor de luz (LED), ubicado a 1.6 m del suelo. La radiación fotosintéticamente activa (PAR) de las lámparas fue de 1-4 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ entre los 0.23- 1.3 m del suelo (RADIAPAR, Cavadevices, Argentina), por lo que representa una densidad de flujo fotónico fotosintético por debajo del punto de compensación lumínico en soja (ca. 41 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ según Gonzales *et al.* 2019). La relación roja/rojo lejana de las lámparas (fluencia a 660nm/fluencia a 730 nm, USB650, Red Tide, Ocean Optics, Estados Unidos) fue de 1.4 a los 1.3 m del nivel del suelo.

5.2.1.2. Mediciones fenológicas, de la senescencia foliar y de la biomasa

La fenología se determinó siguiendo la escala de Fehr & Caviness (1977; ver Cap. II - Tabla 2.1). Las determinaciones fenológicas se realizaron con una periodicidad de entre 5-7 días calendarios, y se consideraba un cambio de estado fenológico cuando más del 50% de la población había alcanzado un determinado estado de desarrollo. En el experimento del año 2019, en el caso del tratamiento de desfrutado, donde la remoción de las vainas no permite utilizar la escala fenológica adoptada, la madurez de cosecha en los tratamientos se determinó al momento que los órganos vegetativos mostraban senescencia total, *i.e.*, la mayoría de las hojas estaban abscindidas y el tallo principal y ramificaciones se encontraba deshidratado y muerto. La duración de las etapas fenológicas se expresó en días calendarios, sin tener en cuenta la corrección por la temperatura, porque la misma se mantuvo controlada durante el experimento en él invernáculo. La radiación solar global incidente diaria durante la post- antesis se determinó a partir de una estación meteorológica (Vantage Pro2, Davis Instruments, Estados Unidos), y esta radiación se transformó a PAR usando el factor de conversión 0.48 (Gosse *et al.* 1986; Andrade 1995). A partir de la sumatoria de este PAR diario, se calculó el PAR acumulado durante la post- antesis, sin tener en cuenta el PAR de las lámparas ya que estaban por debajo del punto de compensación lumínica (Gonzales *et al.* 2019).

En ambos años de experimentos, como un síntoma de la senescencia foliar se determinó la degradación de las clorofilas durante la post-antesis. En el experimento del año 2018 y 2019 se determinó en forma indirecta la degradación de las clorofilas a partir del índice de “verdor” SPAD. Para ello al inicio del tratamiento (R1) se determinó en la mitad superior del tallo la hoja más apical plenamente expandida, la cual se marcó y se denominó como “hoja 0”. En esta hoja (0) y en las dos hojas inmediatamente superiores (denominadas como +1 y +2) se determinó en forma individualizada durante toda la post-antesis los cambios de los valores de SPAD en ambos años. Además, en el experimento del año 2019, en forma individual también se midió el cambio de SPAD en las hojas -1 y -2 (*i.e.*, hojas inmediatamente inferiores a la 0). Por otro lado, en el experimento del año 2018 como una estimación de la degradación de las clorofilas en la mitad superior del canopeo se midieron los valores de SPAD en todas las hojas ubicadas en la mitad superior del tallo. Las hojas donde se realizaron estas determinaciones son hojas apicales completamente desarrolladas (sin síntomas notables de senescencia al inicio del tratamiento) y expuestas a luz solar directa. Las mediciones de SPAD se realizaron en el folíolo central de cada hoja, a partir de tres mediciones: en la región basal, media y distal de cada folíolo. La periodicidad de medición fue de 5-7 días hasta el momento de la abscisión foliar. La abscisión foliar fue cuantificada arbitrariamente con fines estadísticos con el valor 0 de SPAD (degradación máxima de clorofilas). En el experimento del año 2018, la degradación de las clorofilas durante la post-antesis también se cuantificó de forma directa, a partir de la absorbancia de las mismas. Para ellos se extrajeron a los 0, 18, 29 y 56 días post- antesis (dpa) discos de hojas de 0.5 cm de diámetro de los folíolos laterales y fueron colocados en 1 ml N, N - dimetilformamida por 72 horas en oscuridad para extraer las clorofilas de las membranas tilacoidales. Se midió la absorbancia de las clorofilas por un espectrofotómetro (UV-160A, Shimadzu, Japón) en la longitud de onda 664 y 647 nm, y se calculó la concentración según Inskeep y Bloom (1985): **Clorofilas Totales ($\mu\text{g cm}^{-2}$): $(17.90 * \text{Absorbancia } 647 \text{ nm}) + (8.08 * \text{Absorbancia } 664 \text{ nm})$.**

En el experimento del año 2018, como otro indicador de la senescencia foliar, los folíolos abscindidos durante toda la etapa de post- antesis se recogieron periódicamente (2-3 días) y fueron colocados en estufa de secado a 60 °C al menos por 15 días (para lograr peso seco). Posterior al secado se los pesó (Mettler Toledo, Argentina) y con este dato se calculó el porcentaje acumulado de canopeo abscindido en el transcurso de la post-antesis relativo al total del peso del canopeo abscindido durante toda la post- antesis. El porcentaje de canopeo abscindido es la inversa de la retención de las hojas en planta a lo largo del tiempo y es otro indicador estimativo de la senescencia foliar. Además, la abscisión foliar de todo el canopeo

(*i.e.*, 100 % de abscisión del canopeo) en un síntoma de la senescencia monocárpica en plantas⁴.

En el experimento del año 2018 como otro síntoma característico de la senescencia foliar se midió la asimilación neta de dióxido de carbono (A_n) con un analizador de gases por infrarrojos (IRGA, CIRAS 2 Portable Photosynthesis Systems, PP systems, Estados Unidos) utilizando la cámara (“pinza”) PLC6. Las mediciones se realizaron en el folíolo central de la hoja 0, durante las 11- 14 h del día, con una periodicidad de 5-7 días, desde el inicio del tratamiento fotoperiódico hasta la A_n nula ($0 \mu\text{moles CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). La cuantificación de A_n se realizó a saturación lumínica (A_n saturación o “capacidad fotosintética”), por lo que en días nublados previo a la medición las hojas eran aclimatas durante 30 min con lámparas dicróicas (a una distancia de seguridad al folíolo para evitar sobrecalentamiento de la hoja) con una irradiancia similar a la utilizada en la cámara del IRGA. Las condiciones de la cámara de medición del IRGA fueron: PPDF (densidad de flujo fotónico fotosintético \approx “irradiancia”) de $1500 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, concentración de CO_2 de 360 ppm, temperatura de 25°C y humedad de 10 mbares. Las mediciones se realizaron alternando tratamientos fotoperiódicos para evitar el sesgo horario durante el tiempo de medición.

El inicio del avance de la degradación de las clorofilas (calculado a partir de SPAD) y el inicio de avance de la disminución de la A_n se determinaron como el primer valor de SPAD y A_n respectivamente en el cual la tendencia a la disminución de estas variables se hacía continua. Por otro lado, las tasas de avance de degradación de las clorofilas y tasa de avance de disminución de la A_n se determinaron a partir del ajuste de una recta de regresión en el período comprendido entre el inicio de avance de la degradación de las clorofilas y disminución de la A_n y la degradación máxima de clorofilas y A_n nula respectivamente. Además, en este período, y como un indicador de la asociación entre estos dos “síntomas” de la senescencia foliar, se ajustó una recta o curva de regresión (según mejor ajuste) entre la disminución de los valores de SPAD y A_n .

En ambos años de experimento se realizó un muestreo destructivo a madurez de cosecha (R8). Adicionalmente en el experimento del año 2018 se efectuaron muestreos al inicio del tratamiento (R1), a los 18 dpa (R3 para SD y R2-3 para LD) y a los 54 dpa (R5 para SD y R4-5 para LD). La diferencia de fenología a los 18 y 54 dpa se corresponde con el efecto de los tratamientos fotoperiódicos (ver sección de Resultados 5.3.1.1). En ambos cvs. en cada muestreo las plantas se separaron en tallo principal y ramificaciones. A su vez, tallos y ramificaciones fueron separados en órganos vegetativos (*i.e.*, tallos, pecíolos y hojas) y reproductivos (*i.e.*, granos y pericarpio de las vainas). Se contabilizaron número de nudos

⁴ Senescencia a nivel de toda la planta (*i.e.*, hojas, tallos, frutos), en plantas en las que existe un solo ciclo reproductivo previo a la muerte de las mismas (Nooden *et al.* 2004)

(tanto de tallo como de ramificaciones), número de ramificaciones, de vainas y de granos. En el año 2018, en cada muestreo además las vainas se contabilizaron y caracterizaron según su desarrollo como las vainas que caracterizan los estadios R3, R4, R5, R6 y R7 según Fehr & Caviness (1977). Dado que, en soja los folíolos abscinden en forma independiente de los pecíolos, los folíolos se definieron como “lámina foliar” y los pecíolos se analizaron como parte del tallo principal o ramificación según su origen al momento de pesarlos. El área foliar se determinó a partir de las láminas foliares mediante el medidor de área foliar Licor 3100 (Licor 3100 Area Meter, Li-Cor, Estados Unidos). Los diferentes órganos se colocaron al menos durante 15 días en estufa de secado (para lograr peso seco) y luego fueron pesados (Mettler Toledo, Argentina). Los pecíolos y láminas foliares abscindidos durante toda la post- antesis fueron juntados cada 2-3 días y secados para su posterior pesaje; la sumatoria de su peso se denominó “biomasa abscindida”. La sumatoria del peso de tallo principal, ramificaciones, pecíolos y láminas foliares se denominó “biomasa vegetativa”, la sumatoria del peso de semillas y pericarpios “biomasa reproductiva”, y la sumatoria de las anteriores se denominó “biomasa total”.

En el experimento del año 2018 a partir de la biomasa acumulada durante la post- antesis se calculó la producción diaria de la misma por planta a partir de la tasa promedio de crecimiento relativo ($RGR = (\ln P_2 - \ln P_1) / (T_2 - T_1)$ Radford 1967) y tasa promedio de crecimiento absoluto ($AGR = (P_2 - P_1) / (T_2 - T_1)$, Hunt 1990); donde P es el peso de la biomasa aérea, T es tiempo calendario, 1 y 2 son subíndices que representan diferentes tiempos de muestreo. Por otro lado, a madurez de cosecha y como un estimador de la distribución de biomasa en biomasa vegetativa y de semillas o reproductiva por planta se calculó el índice de cosecha (Donald & Hamblin 1976) modificado⁵ como: ***Partición a semillas/ a biomasa reproductiva = (Peso semilla o Biomasa reproductiva) / (Biomasa total o biomasa total + biomasa abscindida)***. También se calculó el ***peso individual de la semilla = peso de semilla pl^{-1} / número de semillas pl^{-1}*** .

5.2.2. Experimento 2

5.2.2.1. Condiciones de cultivo, tratamientos fotoperiódicos y determinaciones fisiológicas

Este experimento corresponde al ensayo en condiciones de campo realizado durante la campaña 2018-19 (Ver Cap. II para más detalles). En forma concisa, se sembró el cv. de

⁵ El cálculo original de índice de cosecha (HI) de Donald & Hamblin (1976) solo se considera la biomasa de granos, y la biomasa aérea no incluye la biomasa abscindida ya que las especies utilizadas para el cálculo son cereales donde la abscisión foliar no sucede. En este capítulo se consideró además de la biomasa de granos, la biomasa reproductiva que incluye los granos y pericarpios; Por otro lado, también en este capítulo se tuvo en cuenta la biomasa abscindida.

soja NS4619, el 7 de diciembre del año 2018, en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE). El ensayo se diseñó en bloques completamente aleatorizados, donde cada bloque fue sometido a un tratamiento fotoperiódico al alcanzar la antesis (R1 según Fehr & Caviness 1977). Los tratamientos fotoperiódicos post- antesis fueron de día corto (SD) correspondiente al fotoperíodo natural, y de día largo (LD) extendiendo por 4 h el fotoperíodo natural al momento de la puesta del sol (lámparas LED). La duración de cada etapa fenológica se corrigió por la temperatura media y se expresó en día térmico (dt) según el modelo de Piper *et al.* (1996).

En este experimento además de determinarse la An (ver condiciones de medición y resultados en Cap. II) con un analizador de gases por infrarrojos (IRGA, CIRAS 2 Portable Photosynthesis Systems, PP systems, Estados Unidos) utilizando la cámara (“pinza”) PLC6 se determinó la conductancia estomática (gs). Las mediciones de gs se realizaron durante las 11- 14 h del día alternando tratamientos fotoperiódicos para evitar el sesgo horario y de ritmos circadianos de apertura-cierre estomático que puedan ser una fuente de variación durante las determinaciones.

5.2.2.2. Determinaciones de hormonas en hojas

Para la determinación de la concentración de hormonas foliares se extrajeron discos de hojas de 1 cm de diámetro de los folíolos laterales. Las hojas fueron las mismas en las que se realizó la determinación de SPAD y An en el año 2018-2019 (Ver Cap. II). En cada bloque se extrajeron 3 discos por bloque y tratamiento en 4 tiempos sucesivos correspondientes a los 17, 24, 36 y 59 días térmicos post- antesis (dtpa). Estos dtpa se corresponden con los estadios R3, R5, R6 y R7 en SD, y con los estadios R2/3, R3/4, R5 y R6 en LD, debido a la demora del desarrollo fenológico en LD (Ver Cap. II). Una vez extraídos los discos se los colocó inmediatamente en nitrógeno líquido y oscuridad para evitar cualquier posible degradación de los componentes foliares y se los almacenó a -80 °C hasta su análisis. Posteriormente se molieron las muestras mediante un mortero con nitrógeno líquido y una vez logrado un homogenizado de los tejidos foliares, se las liofilizó durante 48 h (-30 Pa, -60 °C liofilizador Freezer Dryer Scientz-10N, China).

La determinación de citocininas se realizó en el *Laboratory of Growth Regulators* (Faculty of Science, Palacký University and Institute of Experimental Botany, República Checa). La extracción de citocininas se realizó en triplicado en cada muestra con un solvente tipo Bieleckis modificado (75 % metanol, 5 % ácido fórmico, 20 % agua; 100 mg muestra / 1 ml solvente) (Hoyerova *et al.* 2006). Se agregaron a cada muestra isótopos de citocininas deuteradas (Olchemim Ltd., República Checa) para comprobar la recuperación durante la purificación y validar la determinación (0.25 pmol de citocininas sin sustitución, ribosidos, y de

citocininas 7- y 9-glucosiladas; 0.5 pmol de citocininas O-glucosiladas y ribótidos de citocininas) (Novak *et al.* 2008). Las muestras se sonicaron durante 3 min y posteriormente se realizaron dos ciclos sucesivos de agitado (30 min, 4 °C) y centrifugación (3 min, 15 000 rpm), donde se conservó el sobrenadante para la purificación (Novak *et al.* 2008). La purificación se realizó con la combinación de columnas de C18 (100 mg/1 ml) y MCX (30 ml/1 ml) (Agilent Technologies, Estados Unidos) (Dobrev & Kamínek 2002). Una vez realizada la purificación, los eluidos se secaron mediante evaporación (Speed-Vac RC 1010 Jouan, Reino Unido) y se disolvieron en 30 µl de metanol (10 %) (Svacinova *et al.* 2012). De cada muestra se inyectaron 10 µl en una columna analítica Waters UPLC®BEH Shield C18 (1,7 µm; 2,1 x 150 mm; Estados Unidos) y se analizaron mediante cromatografía líquida de ultrarresistencia (Acquity UPLC System; Waters, Estados Unidos) acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo equipado con una interfaz de *electrospray* (Xevo TQ-S, Waters, Reino Unido) (Svacinova *et al.* 2012). La detección de citocininas endógenas se efectuó mediante el seguimiento de múltiples reacciones de $[M+H]^+$ y el ion producto apropiado (Novak *et al.* 2008). La cuantificación se realizó con el *software* Masslynx V4.2 (Waters, Estados Unidos.) usando un método estándar de dilución de isótopos (Novak *et al.* 2003). Las citocininas determinadas fueron tanto las formas alifáticas [Isopentenil adenina (IP), Zeatina (Z), Dihidrozeatina (DHZ)], como las formas aromáticas [Bencilaminopurinas (BAP), Topolinas (T) y Kinetinas (T)]. De cada grupo de citocininas se analizó su forma de base libre (sin grupos R como sustituyentes), su forma glucosilada (O- glucosilada, 7- glucosilada y 9- glucosiladas), su forma ribósido (ribosidos libres, ribosidos O- glucosilados) y su forma ribótido (sustitución 5' monofosfato).

Las determinaciones de ácido abscísico (ABA), giberelinas (GA₁ y GA₃), ácido indol acético (IAA, la auxina natural más abundante), ácido jasmónico (JA) y ácido salicílico (SA) se realizaron en el Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas (INIAB-CONICET – Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina). La extracción de las hormonas se realizó con un solvente a base de metanol (80 % metanol, 19% agua, 1% ácido acético, pH 2.8-3; 100-120 mg muestra / 5 ml solvente) (Masciarelli *et al.* 2013). Se agregaron 50 ng de isótopos deuterados de ABA, IAA, JA, SA y GA (Olchemim Ltd., República Checa) para comprobar la recuperación de las hormonas (Masciarelli *et al.* 2014). Las muestras fueron sometidas a dos ciclos sucesivos de agitación (4 °C, 30 min) y centrifugación (8000 rpm, 15 min), en el que se recuperó el sobrenadante (Rodríguez *et al.* 2012). El sobrenadante se repartió por triplicado y se le agregó acetato de etilo saturado con ácido acético. Posteriormente se recuperó la fase orgánica mediante la evaporación a 37 °C (Speed-Vac RC 1010 Jouan, Reino Unido), y el extracto se disolvió en 50 µl de metanol (100 %) (Masciarelli *et al.* 2014). De cada muestra se inyectaron 10 µl en una columna analítica Restek C18 (5 µm, 2,19 x 100 mm, Restek, Estados Unidos) y se analizaron mediante cromatografía líquida de alta "performance" (Alliance 2695, Waters, Estados Unidos) acoplado a un espectrómetro de masas de doble cuadrupolo

equipado con una *fente de ionización por spray* (ESI) (Micromass, Reino Unido) (Masciarelli *et al.* 2014). La detección de hormonas endógenas se efectuó mediante el seguimiento de múltiples reacciones de [M-H] y el ion producto apropiado (Masciarelli *et al.* 2014). La cuantificación se analizó utilizando el *software* Mass Lynx TM 4.1 y Quan Lynx TM 4.1 (Micromass, Reino Unido) utilizando una curva de calibración construida con cantidades conocidas de cada hormona y su relación con un estándar puro/estándar deuterado (Sigma, Estados Unidos.) (Masciarelli *et al.* 2014)

5.2.3. Análisis estadístico

En ambos experimentos los análisis estadísticos se realizaron con modelos lineales mixtos (mlg) o modelos lineales generalizados mixtos (mlgm). El factor fijo fue el tratamiento fotoperiódico post-antesis, mientras que el factor aleatorio fue el contenedor y el bloque en el experimento 1 y 2 respectivamente. En cada tratamiento los muestreos destructivos y no destructivos tuvieron al menos 5 repeticiones (*i.e.*, contenedor con una planta) en el experimento 1, y 3 repeticiones (*i.e.*, bloques) en el experimento 2. Las comprobaciones de los supuestos de distribución y de varianza, y las decisiones estadísticas se realizaron siguiendo los mismos criterios que en los capítulos II a IV. En ambos experimentos los ANOVAS de los modelos mixtos se analizaron a 3 niveles de significancia estadística (P 0.05, 0.01, 0.001). En el experimento 1, del año 2019, en el que existieron 2 tratamientos (*i.e.*, fotoperíodo y desfrutado), los análisis *a posteriori* se realizaron utilizando el test LSD Fisher (P < 0.05). En ambos experimentos las mediciones repetidas en el tiempo (SPAD, An, gs, concentración de hormonas foliares) se analizaron como en capítulo II al IV. La tasa de avance de la degradación de las clorofilas, tasa de avance de disminución de la An y la relación entre ellas se calculó mediante el ajuste de una recta o curva de regresión (según mejor ajuste) y se determinó un coeficiente de determinación (R^2), al igual que en los capítulos II al IV. También se determinó la asociación entre la concentración de clorofilas foliares e índice de “verdor” SPAD por el coeficiente de correlación de Pearson. Se utilizó el programa estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020), y los gráficos se realizaron con el programa Excel versión 2016 (Microsoft Office Profesional Plus 2016) al igual que en los capítulos II al IV.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Experimento 1

5.3.1.1. Fenología y condiciones ambientales durante post-antesis

En ambos cultivares la antesis (R1) se alcanzó antes del 21 de junio (*i.e.*, menor fotoperíodo en el año) (Fig. suplementaria 5.1). Por otro lado, la madurez de cosecha (R8) en ambos tratamientos fotoperiódicos en los cvs. NS4619 y Williams 82 sin vainas (*i.e.*, tratamiento de desfrutado) fue posterior al 21 de junio; en cambio en Williams 82 con vainas intactas en ambos tratamientos fotoperiódicos el estadio R8 se alcanzó previo al 21 de junio (Fig. suplementaria 5.1). Por lo tanto, en los cvs. NS4619 y Williams 82 sin vainas la post-antesis transcurrió en un fotoperíodo decreciente inicialmente seguido por uno creciente, mientras que en Williams 82 con vainas intactas toda la post- antesis sucedió en un fotoperíodo decreciente (Fig. suplementaria 5.1). A pesar de estas fluctuaciones del fotoperíodo posterior a la antesis, los tratamientos de LD siempre tuvieron 4 h adicionales en relación de SD; el rango fotoperiódico (*i.e.*, la variación entre el fotoperíodo mínimo y máximo durante la post- antesis) en ambos cultivares durante la post-antesis fue entre 2-2.3 h (Tabla 5.1; Fig. suplementaria 5.1).

En ambos cultivares la duración de la post- antesis fue mayor bajo LD en comparación de SD (Tabla 5.1). En el cv. NS4619, las etapas R1-R3 y R5-R8 fueron las más afectadas y se alargaron entre 11- 15 días bajo LD en comparación de SD; mientras que la etapa R3-R5 casi no fue modificada, teniendo 2 días más bajo SD en relación a LD (Fig. suplementaria 5.2). En el cv. Williams 82 las plantas con vainas intactas y expuestas en LD tuvieron 15 días adicionales (24%) de duración de la post-antesis comparado con las plantas sometidas en SD (Tabla 5.1). No se observó una etapa más afectada respecto de otras, y todas tuvieron entre 4-6 días adicionales bajo LD en relación de SD (Fig. suplementaria 5.2). Considerando los tratamientos de desfrutados, en LD-va se prolongó por 21 días más (16%) la duración de la post- antesis en comparación de SD-va (Tabla 5.1). Por otro lado, los tratamientos de desfrutado comparados con los que tienen vainas intactas en un mismo fotoperíodo (*i.e.*, SD vs. SD-va y LD vs. LD-va) tuvieron entre 71- 77 días adicionales en post- antesis. Esto equivale al doble de días en los tratamientos sin vainas en comparación de las plantas con vainas intactas (Tabla 5.1).

Producto de la mayor duración de la post- antesis bajo LD en el cv. NS4619 la radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) durante esta etapa fue un 23% mayor comparación de SD. En el cv. Williams 82 en los tratamientos LD y LD-va el PARac durante post-antesis fue un 16-18 % mayor en comparación de SD y SD-va. Por otro lado, los tratamientos de desfrutado en comparación con tratamientos con vainas intactas alcanzaron un 68-72 % más de PARac durante la post- antesis (Tabla 5.1; Fig. suplementaria 5.1).

Tabla 5.1. Duración, rango de fotoperíodo y radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) durante la post-antesis (R1-R8) en plantas de soja cv. NS4619 y cv. Williams 82 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en experimento 1 de los años 2018 y 2019.

Año Cultivar	Tratamiento	Duración R1 – R8 (d)	Rango de fotoperíodo (h)	PARac (MJ m ⁻²)
2018				
NS4619	SD	123	9.8 – 11.9	492.9
	LD	148	13.8 – 15.9	606.9
2019				
Williams 82	SD	62	10.1 – 12.1	359.8
	LD	77	13.9 – 16.1	416.2
	SD-va	133	9.8 – 12.1	603.6
	LD-va	154	13.9 – 16.1	714.5

En el cv. NS4619 y cv. William 82 los tratamientos con vainas intactas se denotan como SD y LD, y los tratamientos de desfrutados con SD-va y LD-va. El estadio fenológico R1 (antesis) y R8 (madurez de cosecha) se determinó según escala de Fehr & Caviness (1977). PARac se calculó por la sumatoria de radiación global incidente diaria transformada por el factor 0.48 en cada intervalo. Ver materiales y métodos para una descripción

5.3.1.2. Modificación del contenido de clorofilas foliares y asimilación de CO₂ durante post- antesis

La senescencia foliar estuvo demorada en los cultivares de soja expuestos en LD en comparación de SD, evidenciado esto por un retraso en la degradación de las clorofilas y la abscisión foliar, y una persistencia en la asimilación de CO₂. En relación a las clorofilas foliares (determinada mediante el índice de “verdor” SPAD) en el cv. NS4619 el inicio del avance de la degradación de las clorofilas (*i.e.*, primer valor de SPAD que indica una tendencia continua a la disminución de esta variable) medida en la mitad superior del tallo principal (*i.e.*, una estimación de la senescencia de la mitad superior del canopy) y en hojas individualizadas (0, +1, +2) ocurrió a los 42 días post-antesis (dpa) bajo SD (correspondiente a estadio R4-5), mientras que bajo LD ocurrió entre los 56-63 dpa (correspondiente a R5) (Fig. 5.1). La tasa de avance de la degradación de las clorofilas en hojas individualizadas (calculada a partir de la recta de regresión ajustada entre el inicio del avance de la degradación de las clorofilas y degradación máxima de clorofilas), fue menor en LD en relación de SD (Fig. 5.1). La abscisión de todas las hojas de la mitad superior del tallo y de todo el tallo principal (*i.e.*, la senescencia tiene dirección acrópeta en el tallo principal de soja) fue a los 113 dpa en SD y demoró 13 días más en plantas expuestas en LD (Fig. 5.1). En todas las hojas individualizadas la abscisión bajo SD ocurrió a los 63 dpa, mientras que en LD ocurrió a los 86 dpa en la hoja 0, y a los 119 dpa en las hojas +1 y +2 (Fig. 5.1). El cálculo del porcentaje de hojas abscindidas

acumuladas relativo al total de las hojas en post- antesis, registró que bajo LD la abscisión de las hojas comenzó a los 70 dpa, mientras que en ese momento los tratamientos bajo SD ya tenían el 44.7 % de la biomasa foliar abscindida (Fig. suplementaria 5.3). A los 123 dpa bajo SD se alcanzó la totalidad de la abscisión foliar, mientras que en LD se retenían todavía un 30% de las hojas (Fig. suplementaria 5.3). La concentración total de clorofilas a los 56 dpa (R5-6 para SD y R5 para LD) fue mayor bajo LD en relación de SD (Fig. suplementario 5.4). El coeficiente de correlación de Pearson entre la disminución de clorofilas y SPAD fue de 0.9 en SD, y de 0.6 en LD (en LD a los 56 dpa la disminución de clorofilas y SPAD era mínima).

En relación a la asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n), en el cv. NS4619 no existieron diferencias entre tratamientos hasta los 42 dpa (Fig. 5.2). A partir de ese momento, las plantas expuestas bajo SD experimentaron una marcada disminución de la A_n , mientras que en las plantas en LD la A_n se mantuvo por 21 días más con un valor similar al de los primeros 42 dpa (el descenso marcado de A_n se observó posterior a los 63 dpa, correspondiente a R5) (Fig. 5.2). A los 63 dpa no se registró A_n en SD (*i.e.*, A_n nula), sin embargo, en LD se siguió asimilando CO_2 por 14 días más. La tasa de avance de disminución de A_n (calculada como la recta de regresión ajustada entre el inicio del avance de la disminución de la A_n , 42 dpa en ambos tratamientos, y la A_n nula), fue significativamente menor bajo LD en relación de SD (Fig. 5.2). El inicio de la disminución de la A_n comenzó al mismo tiempo en ambos tratamientos fotoperiódicos, y fue coincidente con el inicio de avance de la degradación de las clorofilas (SPAD) en SD. En cambio, en las plantas bajo LD el inicio del avance de la degradación de las clorofilas fue posterior (56 dpa) al inicio del avance de la disminución de la A_n (Fig. 5.1; Fig. 5.2). A pesar de este desfase bajo LD, en ambos tratamientos la tasa de avance de degradación de las clorofilas y tasa de avance de la disminución de A_n se relacionaron significativamente a partir de una curva de regresión exponencial, con un alto coeficiente de determinación (R^2 0.95 para SD y 0.90 para LD) (Fig. suplementaria 5.5).

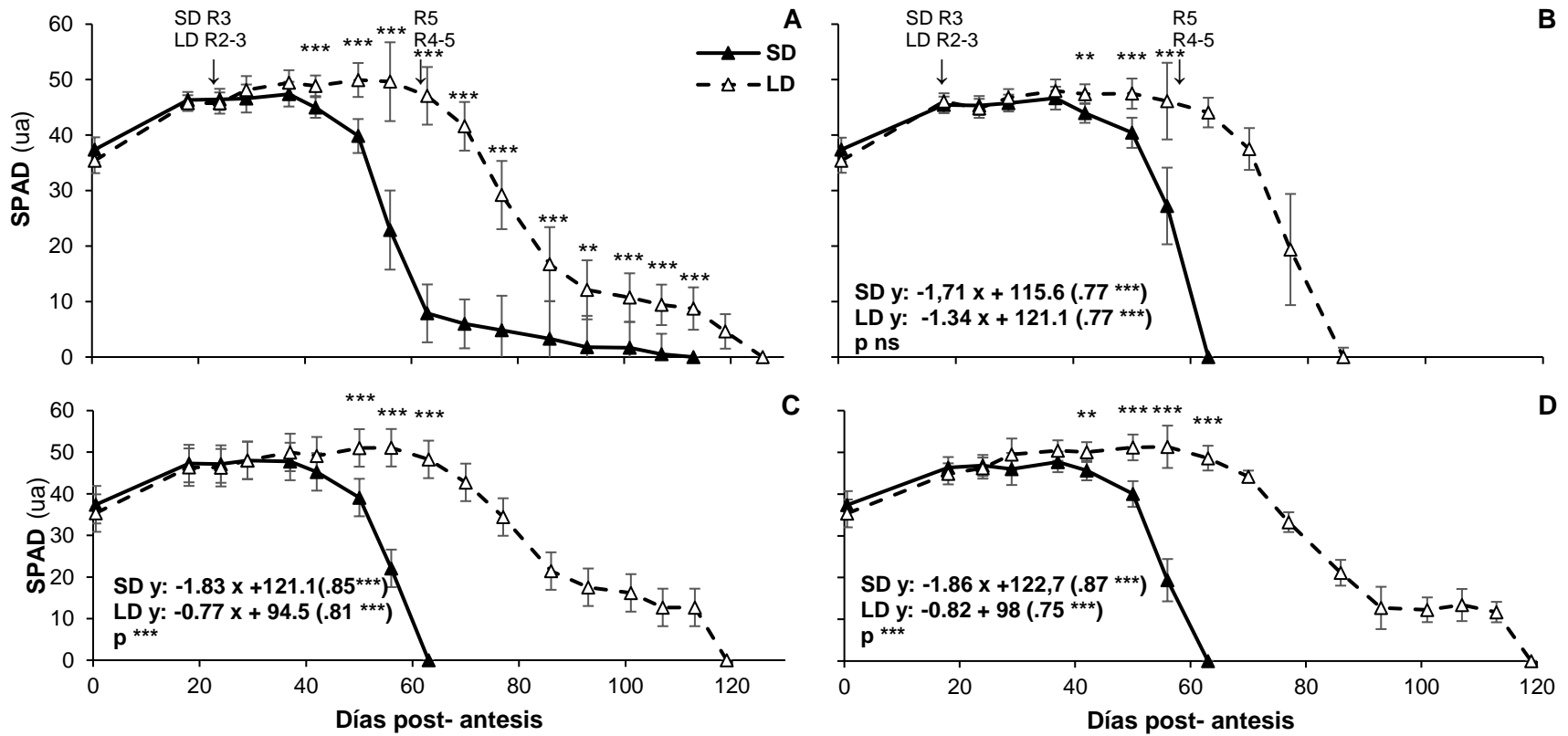


Figura 5.1. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir del “índice de verdor” SPAD) en plantas soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2018. (A) SPAD promedio de hojas ubicadas en mitad superior de tallo principal, (B) hoja 0, (C) hoja +1 y (D) hoja +2. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indican día de los estadios fenológicos R2- R5 según Fehr & Caviness (1977) en SD y LD. Las ecuaciones representan la tasa de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre el inicio de avance de la degradación y degradación máxima de clorofilas); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0,05$, $0,01$ y $0,001$ respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

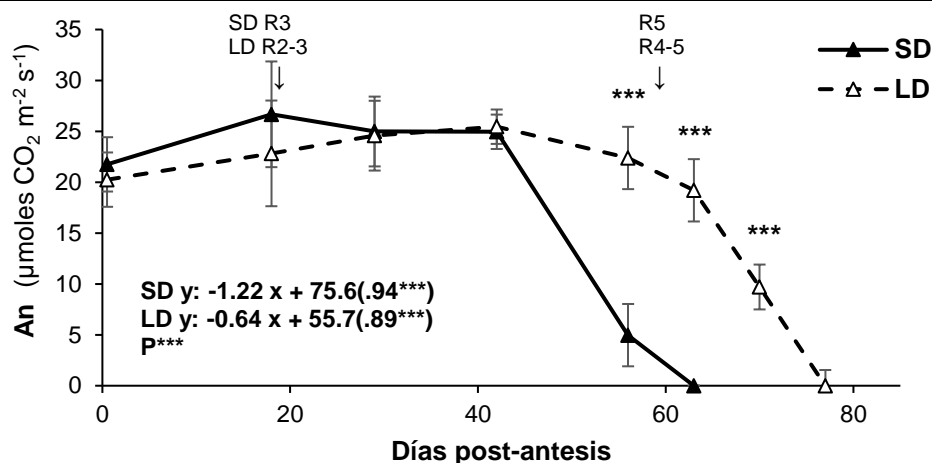


Figura 5.2. Modificación de la asimilación neta de CO₂ a saturación lumínica (A_n) en plantas soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2018. En la parte superior del gráfico las flechas (\downarrow) indican día de los estadios fenológicos R2- R5 según Fehr & Caviness (1977) en SD y LD. Las ecuaciones representan la tasa de avance de disminución de A_n (calculada entre el inicio de avance de disminución de A_n y A_n nula); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencia estadísticamente significativa a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

En el cv. Williams 82 la demora de la senescencia foliar evidenciada por el contenido de clorofilas foliares (SPAD) bajo LD en relación de SD, fue similar que en el cv. NS4619. En Williams 82 con vainas intactas, el inicio del avance de la degradación de las clorofilas fue al mismo tiempo entre tratamientos en las hojas ubicadas en la mitad superior del tallo principal (Fig. 5.3). Sin embargo, a los 39 dpa (R5 para SD y R4-5 para LD) se comenzó a evidenciar en LD una menor disminución de los valores de SPAD en comparación con SD, y esta diferencia se sostuvo hasta la abscisión de todas las hojas de la mitad superior del tallo principal (Fig. 5.3). La abscisión de las hojas de la mitad superior del tallo principal y de todo el tallo fue a los 54 dpa bajo SD y 23 días después en LD (Fig. 5.3). En las hojas individualizadas más basales (-2, -1, 0) el inicio del avance de la degradación de las clorofilas fue el mismo entre tratamientos (39 dpa) (Fig. suplementaria. 5.6); en cambio en las hojas más apicales (+1, +2) en LD estuvo demorado 15 días en relación de SD (54 vs. 39 dpa, respectivamente) (Fig. 5.4). La tasa de avance de la degradación de las clorofilas no cambió en las hojas más basales entre tratamientos y fue significativamente menor en las hojas más apicales bajo LD en relación a SD. Tanto en las hojas más basales (a

excepción de la -1) como más apicales la abscisión foliar bajo LD fue 8 y 23 días posterior respectivamente que en SD (Fig. 5.4; Fig. suplementaria 5.6).

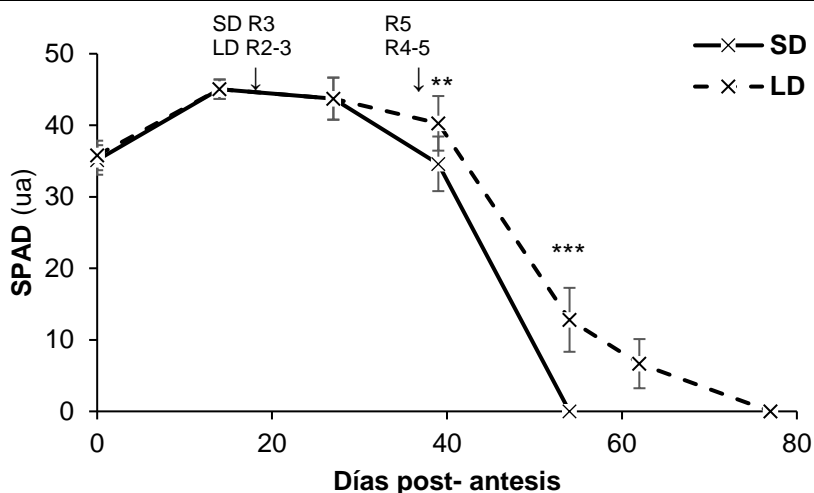


Figura 5.3. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir del índice de "verdor" SPAD) en hojas ubicadas en la mitad superior del tallo principal en plantas de soja cv. Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2019. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indican día de los estadios fenológicos R2- R5 según Fehr & Caviness (1977) en SD y LD. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

En el cv. Williams los tratamientos de desfrutado (*i.e.*, plantas sin vainas) registraron una demora de la senescencia foliar en relación a los tratamientos con vainas intactas (*i.e.*, plantas con vainas). Sin embargo, dentro de los tratamientos de vainas intactas y desfrutadas, los tratamientos fotoperiódicos post-antesis generaron similares respuestas en relación a la senescencia foliar. En las hojas más basales el inicio del avance y la tasa de avance de la degradación de las clorofilas, y la abscisión no se vio modificada entre SD-va y LD-va (Fig. suplementaria. 5.6). En cambio, en las hojas más apicales en LD-va existió una demora de la degradación de las clorofilas en relación a los SD-va (Fig. 5.4). En la hoja apical +1, el inicio del avance y la tasa de avance de la degradación de las clorofilas no difirieron entre tratamientos, sin embargo, a partir de los 63 dpa la disminución de los valores de SPAD en LD-va durante la post- antesis fueron generalmente menores que en SD-va (Fig. 5.4). En la hoja +2, la demora de la degradación de las clorofilas fue más evidente, ya que el inicio del avance de la degradación de las clorofilas fue 23 días más

tarde bajo LD-va en relación de SD-va; además, la tasa de avance de la degradación de las clorofilas fue significativamente menor en LD-va en comparación de SD-va (Fig. 5.4).

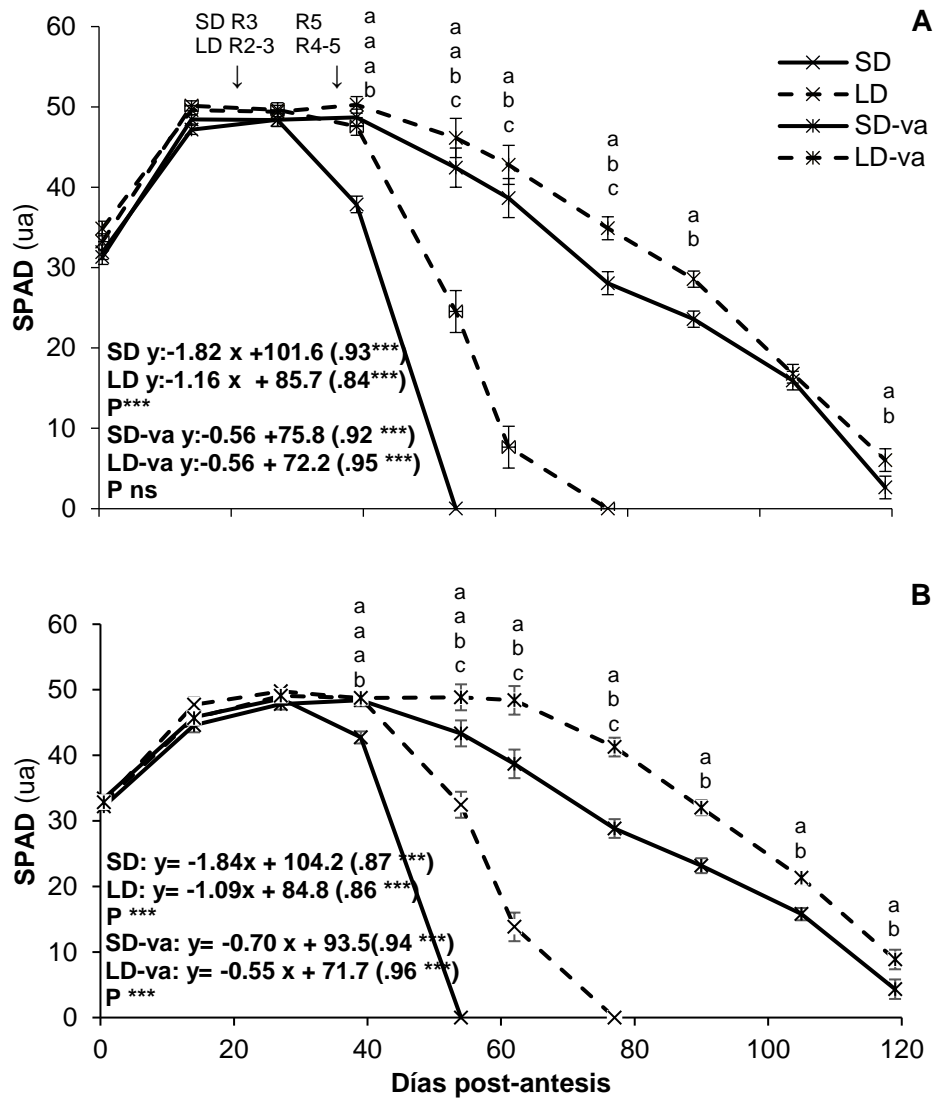


Figura 5.4. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir del índice de "verdor" SPAD) en plantas de soja cv. Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) combinado con tratamiento de desfrutado (-va) en post-antesis en el experimento 1 de año 2019. (A) hoja +1 y (B) +2. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indican día de los estadios fenológicos R2-R5 según Fehr & Caviness (1977) para tratamientos con vainas intactas. Las ecuaciones representan la tasa de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre en inicio de avance de la degradación y degradación máxima de clorofilas); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos (SD vs LD, SD-va vs LD-va). Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media. Diferentes letras representan diferencias entre tratamientos a $P < 0.05$ según Test de Fisher.

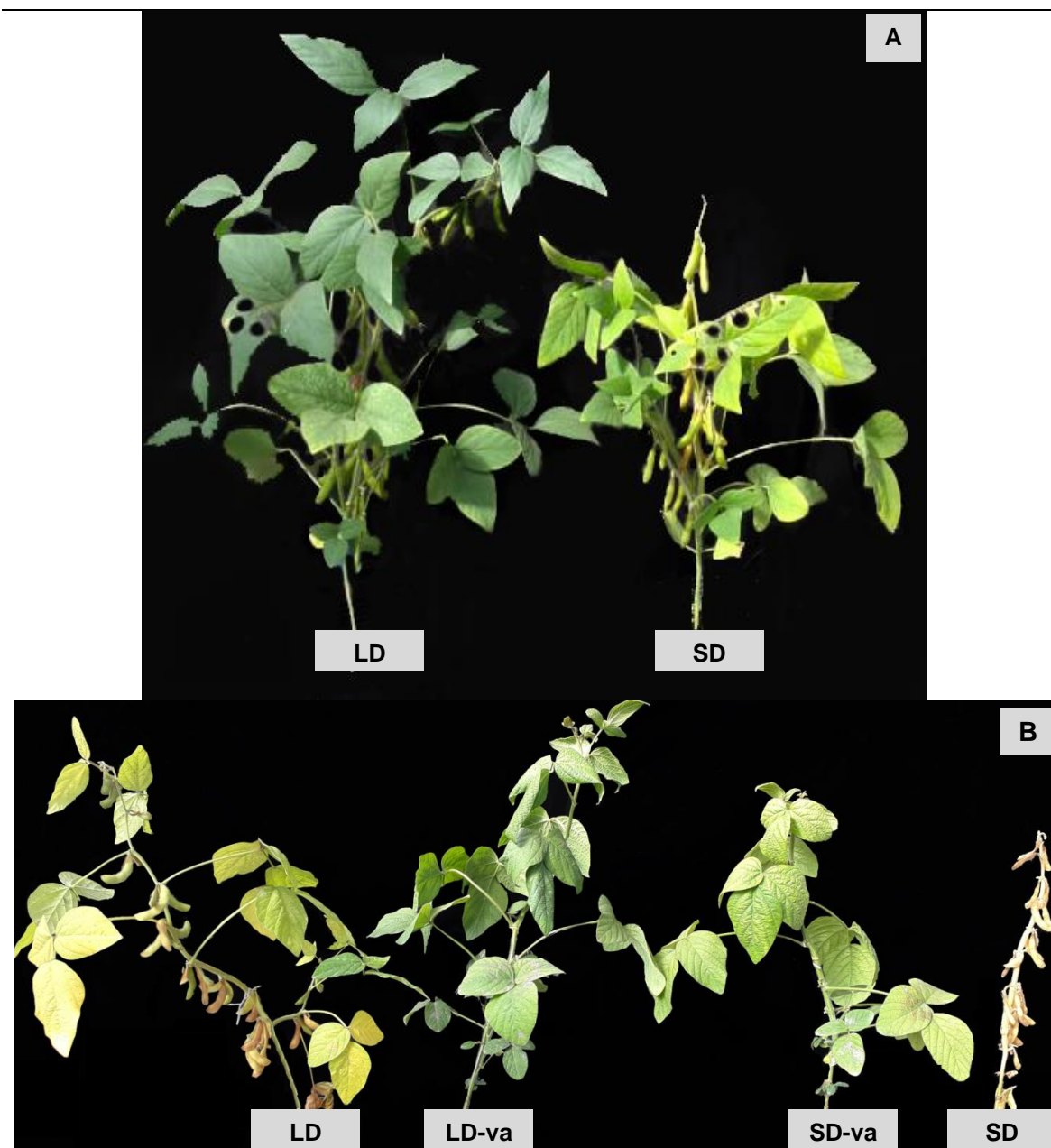


Figura 5.5. Vista general de plantas de soja cv. NS4619 y Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2018 y 2019. (A) cv. NS4619 a los 60 días post-antesis (dpa) y (B) cv. Williams 82 a los 62 dpa. En ambos cv. SD y LD corresponden a tratamientos con vainas intactas. En Williams SD-va y LD-va corresponde a tratamientos de desfrutado.

5.3.1.3. Modificación de la biomasa vegetativa y reproductiva durante post-antesis

En forma similar a lo registrado en el capítulo II en condiciones de campo, en el cv. NS4619 existió una mayor producción de biomasa vegetativa (*i.e.*, conjunto del peso de tallos, pecíolos y láminas foliares) durante la post-antesis en los LD en comparación de los

SD. La mayor generación de biomasa vegetativa se comenzó a registrar a los 58 dpa (estadio R5 para SD y R4-5 para LD) con el incremento significativo (40%) de la misma por planta bajo LD en comparación de SD (Fig. 5.6). Congruentemente el número de nudos del tallo principal, peso de tallo principal (incluye peso de los pecíolos del tallo principal) y ramificaciones (incluye peso de los pecíolos de las ramificaciones) aumentaron un 16, 35 y 58% bajo LD en comparación de SD. El peso y área de láminas foliares del tallo principal y de ramificaciones aumentaron entre 41-49% y 84-110% respectivamente en LD en comparación de SD (Fig. 5.6; Tabla suplementaria 5.2). A madurez de cosecha (estadio R8) se observaron similares diferencias que a los 58 dpa. La biomasa vegetativa por planta y peso del tallo principal (en este estadio todos los pecíolos abscindieron) aumentó entre un 50- 60 % bajo LD en comparación de SD (Tabla 5.2; Fig. 5.6). Por otro lado, el peso de las ramificaciones no tuvo diferencias significativas entre tratamientos. La biomasa vegetativa por planta incluyendo en el cálculo la biomasa abscindida (conjunto de láminas foliares y pecíolos) durante toda la post-antesis se incrementó en ambos tratamientos entre 140-190 % en relación a la biomasa vegetativa calculada sin incluir la biomasa abscindida, sin cambio en la significancia de las diferencias entre los tratamientos fotoperiódicos (Fig. 5.6.).

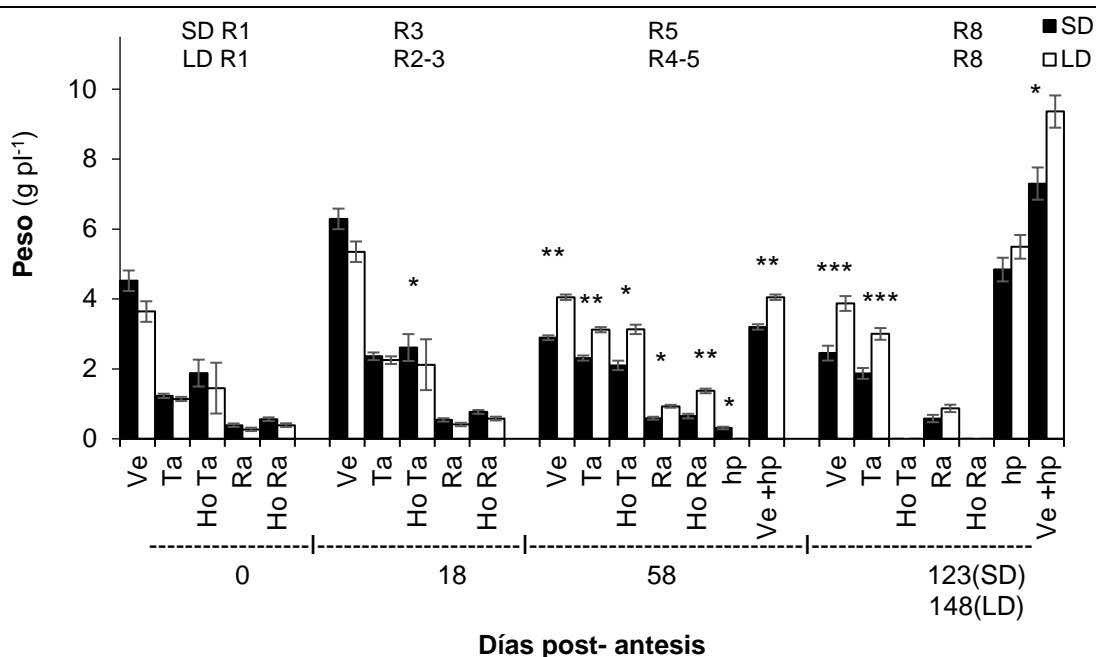


Figura 5.6. Biomasa vegetativa (Ve), de tallo principal (Ta), de ramificaciones (Ra), de hojas del tallo principal (Ho Ta) y ramificaciones (Ho Ra), y biomasa abscindida (hp) en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2018. La biomasa vegetativa incluye peso de tallo principal, ramificaciones y hojas; biomasa de tallo principal y ramificaciones incluye pecíolos asociados a ellos; biomasa de las hojas se corresponden a laminas foliares; la biomasa abscindida incluye peso de láminas foliares y pecíolos. En la parte superior del gráfico R1-R8 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (18 y 58 dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (R8) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media. La sigla “pl” corresponde a planta.

En el cv. NS4619 la biomasa reproductiva también se modificó en forma similar a lo registrado en condiciones de campo en el capítulo II; sin embargo, en el presente capítulo se profundizan estas observaciones a partir de determinar el estado de desarrollo de las vainas en cada muestreo. A los 18 dpa (estadio R3 para SD y R2-3 para LD) la biomasa reproductiva (conjunto del peso de granos y pericarpio de vainas) por planta, asociada al tallo principal y a las ramificaciones fue significativamente mayor en un 270, 160, y 360 % respectivamente bajo SD en comparación con LD (Fig. 5.7). El número de vainas no varió entre los tratamientos, pero si cambió el desarrollo de las mismas. En plantas expuestas en SD el 46 % de las vainas tenían un desarrollo correspondiente a R3 y R4 (*i.e.*, vainas sin granos), y un 54 % un desarrollo R5 y R6 (*i.e.*, vainas con granos). En cambio, bajo LD el 73 % de las vainas tenían un desarrollo R3 y R4, y el 27 % tenían un desarrollo R5 y R6

(Fig. suplementaria 5.7). En consistencia con el desarrollo de las vainas, el número de granos y peso de granos fue un 81 y 486 % mayor respectivamente en SD en relación a LD. El peso de los pericarpios de las vainas bajo SD también fue 234 % mayor que en LD (Fig. suplementaria 5.7). Por otro lado, a los 58 dpa (estadio R5 para SD y R4-5 para LD) la biomasa reproductiva por planta y aquella asociada a las ramificaciones siguió siendo un 18 y 34 % mayor bajo SD en comparación de LD; sin embargo, la biomasa reproductiva asociada al tallo principal no tuvo diferencias entre tratamientos (Fig. 5.7). Nuevamente el número de vainas no cambió entre tratamientos, en cambio sí difirieron en su desarrollo. En las plantas expuestas en SD el 96 % de las vainas tenían un desarrollo correspondiente a R7 (*i.e.*, vainas maduras), mientras que el 6 % de las vainas tenían este estado de desarrollo en LD. Bajo LD el mayor número de las vainas (78 %) tenían un estado de desarrollo correspondiente a R6 (Fig. suplementaria 5.7). El número de granos por planta no varió entre tratamientos, mientras que el peso de los granos por planta fue un 24 % mayor en los SD en comparación de los LD. El peso de pericarpio de vainas por planta fue un 12% mayor bajo LD en relación de SD (Fig. 5.7). Por último, a madurez de cosecha (R8) la biomasa reproductiva por planta y asociada a tallo principal fue un 40 y 58 % mayor bajo LD en comparación de SD. La biomasa reproductiva asociada a ramificaciones no cambió entre tratamientos. El número de vainas por planta fue un 18 % mayor en plantas expuestas en LD en comparación de SD, y el estado de desarrollo de todas las vainas se correspondían con R7 (Fig. 5.7; Fig. suplementaria 5.7). Considerados por planta, el número de granos, peso de granos y pericarpio de vainas fue un 33, 44 y 40 % mayor bajo LD en comparación de SD (Fig. 5.7). El peso individual de granos por planta no varió entre tratamientos (Tabla 5.2). Las diferencias en la biomasa reproductiva asociada al tallo principal fueron mayores que al considerar la planta entera. El número de vainas y granos aumentó entre un 43-50 %, y el peso de granos y pericarpio de vainas entre un 61-67 % en LD en relación de SD. (Fig. 5.7)

Tabla 5.2. Número de nudos del tallo principal, número de ramificaciones, número de vainas, de granos y peso individual grano de tallo principal y ramificaciones a madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) en post- antesis en el experimento 1 del año 2018.

Cultivar	Tratamiento	Tallo principal				Ramificaciones			
		Número de nudos (N° pl ⁻¹)	Número de vainas (N° pl ⁻¹)	Número de granos (N° pl ⁻¹)	Peso Individual de grano (mg Gn ⁻¹)	Número de ramificaciones (N° pl ⁻¹)	Número de vainas (N° pl ⁻¹)	Número de granos (N° pl ⁻¹)	Peso Individual de grano (mg Gn ⁻¹)
NS4619	SD	12	14	32	158.1	4	13	25	151.2
	LD	14*	19**	48***	166.6 ns	4 ns	13 ns	28 ns	152.1 ns

La madurez de cosecha (R8) fue determinada según Fehr & Caviness (1977). La sigla “pl” y “Gn” corresponden a planta y granos respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

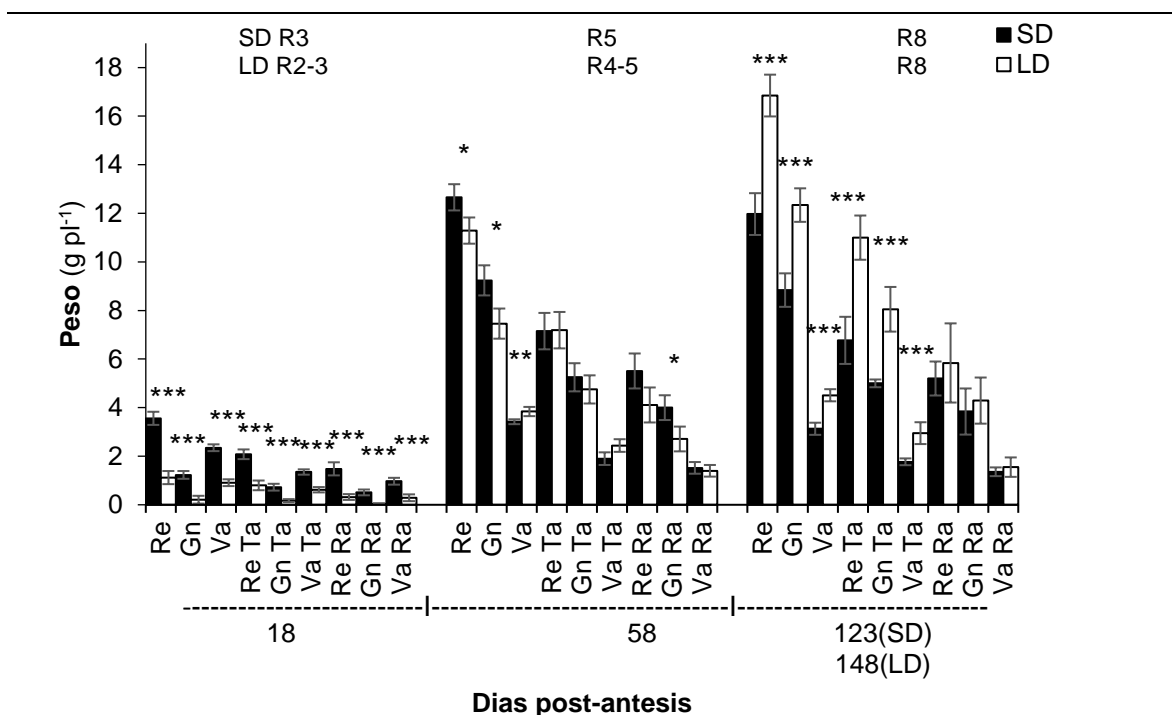


Figura 5.7. Biomasa reproductiva (Re), de grano (Gn) y de pericarpios de vaina (Va) por planta, asociado al tallo principal y a las ramificaciones en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2018. La biomasa reproductiva incluye peso de granos y pericarpio de vainas. En la parte superior del gráfico R2- R8 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los muestreos intermedios (18 y 58 días post-antesis, dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (R8) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media. La sigla “pl” corresponde a planta.

En el cv. NS4619 a madurez de cosecha (estadio R8) la biomasa total (conjunto de biomasa vegetativa y reproductiva) por planta bajo LD fue significativamente mayor que en SD (Fig. suplementaria 5.8). Ese aumento en LD, ya sea calculado con o sin el agregado de biomasa abscindida, fue del orden del 36-44 %. La biomasa total asociada al tallo principal también fue un 62 % mayor bajo LD en comparación con los SD; en cambio en la biomasa total asociada a ramificaciones no se observaron modificaciones entre tratamientos (Fig. suplementaria 5.8). La partición de la biomasa total en biomasa vegetativa y reproductiva a madurez de cosecha estimada a partir del peso de los granos y de la biomasa reproductiva no mostró diferencias significativas entre tratamientos (Tabla suplementaria 5.3). Al igual que lo observado en el capítulo II las tasas de crecimiento promedio se modificaron por los tratamientos fotoperiódicos. Bajo LD la tasa de crecimiento

relativo (RGR) y tasa de crecimiento absoluto (AGR) fue mayor en comparación de SD al considerar todo el período de la post-antesis (R1-R8) (Tabla 5.3). También se registró que la RGR y AGR durante la primera parte de la post- antesis (0- 18 dpa) fue mayor bajo SD en comparación de LD; mientras que en los períodos posteriores (18-58 dpa y 58 dpa- madurez de cosecha) fue mayor en LD en relación de SD (Tabla suplementaria 5.4).

Tabla 5.3. Tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de crecimiento de absoluto (AGR) durante todo el período reproductivo (R1-R8) en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) en post- antesis en el experimento 1 del año 2018.

Cultivar	Tratamiento	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	RGR + hp (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	AGR +hp (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)
NS4619					
	SD	10.2	12.5	84.1	123.5
	LD	11.0 *	12.6 ns	112.4 ***	149.5 **

Los estadios fenológicos R1 (antesis) y R8 (madurez de cosecha) se determinaron según escala de Fehr y Caviness (1977). La RGR y AGR no considera la biomasa abscindida; la RGR + hp y AGR + hp considera la biomasa abscindida (hp). Biomasa abscindida incluye peso de láminas foliares y pecíolos durante el período de post-antesis. La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

En el cv. Williams 82 con vainas intactas se observaron iguales cambios en la acumulación de biomasa que en el cv. NS4619. A madurez de cosecha (estadio R8) la biomasa vegetativa por planta aumentó significativamente un 77% en LD post-antesis en comparación de SD (Fig. 5.8). La biomasa vegetativa asociada a tallo y el número de nudos del tallo principal aumentó un 16 y 78 % bajo LD en relación de SD, mientras que en las ramificaciones no se observaron cambios entre los tratamientos (Tabla 5.4; Fig. 5.8). Durante toda la post-antesis el peso de las láminas y pecíolos abscindidos en LD fue un 43 y 190 % mayor que bajo SD. La inclusión de la biomasa abscindida aumentó la estimación de biomasa vegetativa en ambos tratamientos en un 44-48 %, sin cambio en la significancia entre los tratamientos (Fig. 5.8). A madurez de cosecha la biomasa reproductiva por planta fue un 58 % mayor bajo LD en comparación de SD (Fig. suplementaria 5.9). En ambos tratamientos el 83% de las vainas tenían un estado de desarrollo correspondiente a R7, y las restantes un estadio correspondiente a R3-R5 (estas vainas estaban ubicadas en el tallo principal). Considerando las vainas con desarrollo R7, el número de vainas y granos por planta aumentaron entre un 47-52% en LD en comparación de SD (Tabla 5.4). En consecuencia, el peso de granos y pericarpios de vainas aumentó entre 49-61 % bajo LD en comparación con SD (Fig. suplementaria 5.9). El peso individual de granos por planta

no varió entre tratamientos (Tabla 5.4). La biomasa reproductiva asociada a tallo principal fue un 58 % mayor bajo LD en comparación de SD. El número de vainas, granos, peso de grano y pericarpios de vainas asociado al tallo principal aumentaron en el orden del 55-63 % bajo LD en comparación de SD (Tabla 5.4; Fig. suplementaria 5.9). La biomasa reproductiva asociada a las ramificaciones no tuvo diferencias entre los tratamientos. En correspondencia al cambio en la biomasa vegetativa y reproductiva, la biomasa total a madurez de cosecha por planta y la asociada al tallo principal aumentó entre un 56- 61% en LD en comparación de SD (Fig. suplementaria 5.9). La biomasa total asociada a ramificaciones no varió entre tratamientos. En ambos tratamientos la inclusión de la biomasa abscindida aumentó la estimación de biomasa total en un 7% (Fig. suplementaria 5.9). La partición de la biomasa en biomasa vegetativa y reproductiva no varió entre tratamientos (Tabla suplementaria 5.3).

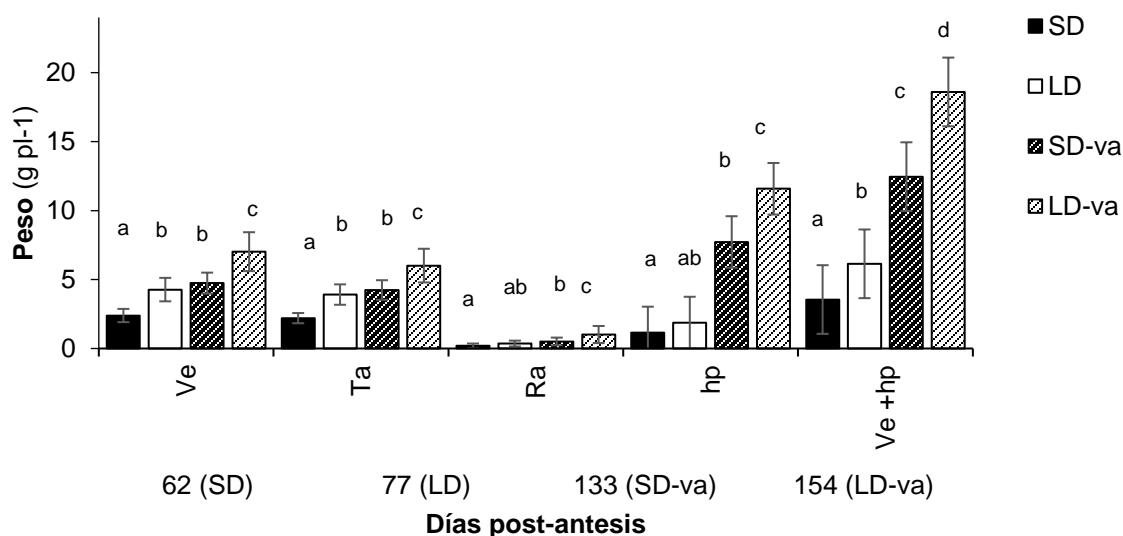


Figura 5.8. Biomasa vegetativa (Ve), del tallo principal (Ta), de ramificaciones (Ra) y biomasa abscindida (hp) a madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cv. Williams 82 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) combinado con tratamiento de desfrutado (-va) durante post-antesis en el experimento 1 de año 2019. La biomasa vegetativa incluye peso de tallo principal y ramificaciones; la biomasa abscindida incluye peso de láminas foliares y pecíolos. Los 62, 77, 133 y 154 corresponden a los diferentes días post- antesis en que se realizó el muestreo final alcanza R8 en los diferentes tratamientos. Diferentes letras representan diferencias entre tratamientos a $P < 0.05$ según Test de Fisher. La barra (I) representa el error estándar de la media. La sigla "pl" corresponde a planta.

En el cv. Williams 82 en los tratamientos de desfrutado (*i.e.*, plantas sin vainas) a madurez de cosecha (determinada por la senescencia de todos los órganos vegetativos de la planta), las plantas expuestas en LD+va incrementaron la producción de la biomasa

vegetativa durante la post-antesis en comparación de SD-va (Fig. 5.8). La biomasa vegetativa por planta y la asociada al tallo principal aumentaron significativamente un 48 y 42% respectivamente bajo LD-va en relación a SD-va (Fig. 5.8). El número de nudos del tallo no varió entre tratamientos (Tabla 5.4). La biomasa vegetativa asociada a ramificaciones y el número de ramificaciones aumentaron un 98 y 75 % respectivamente en LD-va en comparación de SD-va (Fig. 5.8; Tabla 5.4). También el peso de las láminas foliares y pecíolos abscindidos durante la post- antesis fueron mayores en un 47 y 35 % respectivamente bajo LD-va en relación de SD-va. En ambos tratamientos la biomasa vegetativa durante post- antesis aumentó entre 200-250 % con el agregado de la biomasa abscindida, sin cambios significativos en las diferencias entre los tratamientos (Fig. 5.8). La biomasa vegetativa por planta, asociada a tallo principal y ramificaciones se incrementó en las plantas sin vainas (tratamiento de desfrutado) en comparación de los tratamientos con vainas intactas en igual fotoperíodo (*i.e.*, SD vs. SD-va y LD vs. LD-va) (Fig.5.8). También se registró esta tendencia en el número de nudos del tallo principal (Tabla 5.4); además, en LD-va se generaron 3 ramificaciones más por planta que en LD (Tabla 5.4). Al comparar todos los tratamientos entre si (*i.e.*, fotoperíodo y desfrutados) se observó que durante la post-antesis bajo LD-va se produjo la mayor biomasa vegetativa mientras que en SD fue la menor (Fig. 5.8). Por otro lado, la biomasa vegetativa entre SD-va y LD no difirió, y fue mayor y menor respectivamente que en SD y LD-va (Fig.5.8).

Tabla 5.4. Número de nudos del tallo principal, número de ramificaciones, número de vainas, de granos y peso individual de grano de tallo principal y ramificaciones a madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cv. Williams 82 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) combinado con tratamiento de desfrutado (-va) en post- antesis en el experimento 1 del año 2019.

Cultivar	Tratamiento	Tallo principal				Ramificaciones			
		Número de nudos (Nº pl ⁻¹)	Número de vainas (Nº pl ⁻¹)	Número de granos (Nº pl ⁻¹)	Peso Individual de grano (mg Gn ⁻¹)	Número de ramificaciones (Nº pl ⁻¹)	Número de vainas (Nº pl ⁻¹)	Número de granos (Nº pl ⁻¹)	Peso Individual de grano (mg Gn ⁻¹)
Williams	SD	12 a	22	46	159.5	4 a	7	18	124.1
	LD	14 b	36	72	160.9	4 a	8	15	135.7
	SD-va	16 c				4 a			
	LD-va	16 c				7 b			
	Fot	***	**	**	ns	**	ns	ns	ns
	Des	***				***			
	Fot x Des	**				**			

Los tratamientos SD y LD corresponden a tratamientos con vainas intactas; los tratamientos SD-va y LD-va a los tratamientos de desfrutado (ausencia de vainas). La fuente de variación fue el fotoperíodo (Fot) y el Desfrutado (Des); la interacción entre las dos fuentes de variación se denota Fot x Des. La madurez de cosecha (R8) fue determinada según Fehr & Caviness (1977). La sigla “pl” y “Gn” corresponden a planta y granos respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher.

5.3.2. Experimento 2

5.3.2.1. Análisis de la concentración foliar de hormonas en días largos en post-antesis

En la campaña 2018-2019 durante la post- antesis en hojas se detectaron solo citocininas del tipo alifáticas y no las aromáticas. La concentración foliar de Isopentenil adenina (IP, esto incluye su forma libre, glicosiladas, ribosidos y ribótidos) fue máxima en el estadio R5 bajo SD (24 días térmicos post-antesis, dtpa) y luego tendió a disminuir significativamente hasta el último muestreo; en cambio bajo LD fue máxima en estadio R3-4 y posteriormente tendió a mantenerse sin cambios significativos hasta el último muestreo (Fig. 5.9). A los 59 dtpa la concentración foliar de IP fue un 140 % mayor bajo LD en comparación de SD (Fig. 5.9). El aumento de la concentración de IP en LD estuvo explicado por el aumento significativo del 93 y 42 % en la forma ribósido (IPrs, la forma detectadas fue ribósido libre y O-glucosilada) y ribótido (IPrb) respectivamente (Fig. suplementaria 5.10). Al comparar los mismos estadios fenológicos, R5 y R6 (que se corresponden con muestreos en diferentes dtpa), no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. La concentración de Zeatina (Z, esto incluye su forma libre, glicosiladas, ribosidos y ribótidos) foliar tuvo diferentes tendencias entre tratamientos durante la post- antesis (Fig. 5.9). En los SD aumentó hasta el estadio R5 (24 dtpa) y posteriormente a este estadio se mantuvo sin cambios significativos hasta el final del experimento. En cambio, en los LD la Z foliar aumentó hasta R5 (36 dtpa), y posteriormente tuvo otro aumento significativo (en relación al estadio anterior) en el estadio R6 (59 dtpa) (Fig. 5.9). A los 59 dtpa se observó un aumento significativo del 44% en la concentración de Z en tratamientos de LD en relación de SD. Este aumento de Z foliares bajo LD se explicó por el aumento significativo de un 36 y 61 % de la base libres (Zli, tanto cis como *trans*) y las formas glucosiladas (Zgl, las formas *trans* O - glucosiladas se detectaron durante todos los muestreos, y la forma *trans* 9 y *cis* O glucosiladas solo en el último muestreo) respectivamente en comparación de SD (Fig. suplementaria 5.10). Al comparar el estadio R5 entre tratamientos no existió diferencia significativa, en cambio en el estadio R6 hubo un aumento significativo ($P < 0.05$) en LD en comparación de SD. Ese aumento en R6 estuvo relacionado con un aumento significativo ($P < 0.05$) de Zgl en LD de 110% en relación de SD. En ambos tratamientos la concentración de Dihidrozeatina (DHZ, esto incluye su forma libre, glicosiladas, ribosidos y ribótidos) foliar aumentó hasta los 24 dtpa (R5 en SD y R3-4 en LD) donde alcanzó su máximo valor, se mantuvo en el mismo sin cambios significativos hasta los 36 dtpa (R6 en SD y R5 en LD) y

luego disminuyó en el último muestreo (Fig. 5.9). A los 24 y 36 dtpa se registró un aumento significativo del 32-36 % de DHZ en tratamientos bajo LD en relación de SD (Fig. 5.9). Las diferencias a los 24 dtpa estuvieron vinculadas con el aumento significativo de un 140 y 40 % de la base libre (DHZ li) y los ribósidos (DHZ rs, se detectaron los ribósidos en su forma libre y O- glucosilada) respectivamente; a los 36 dtpa el incremento se explicó por un aumento del 85 y 29 % de las formas libres y glucosiladas (se detectaron las formas O, 7 y 9 glucosiladas) respectivamente (Fig. suplementaria 5.10). A los 59 dtpa no existió diferencia significativa en la concentración de DHZ entre los tratamientos. Al comparar los mismos estadios fenológicos (*i.e.*, R5 y R6) no existió diferencia significativa en la concentración foliar de DHZ entre los tratamientos fotoperiódicos.

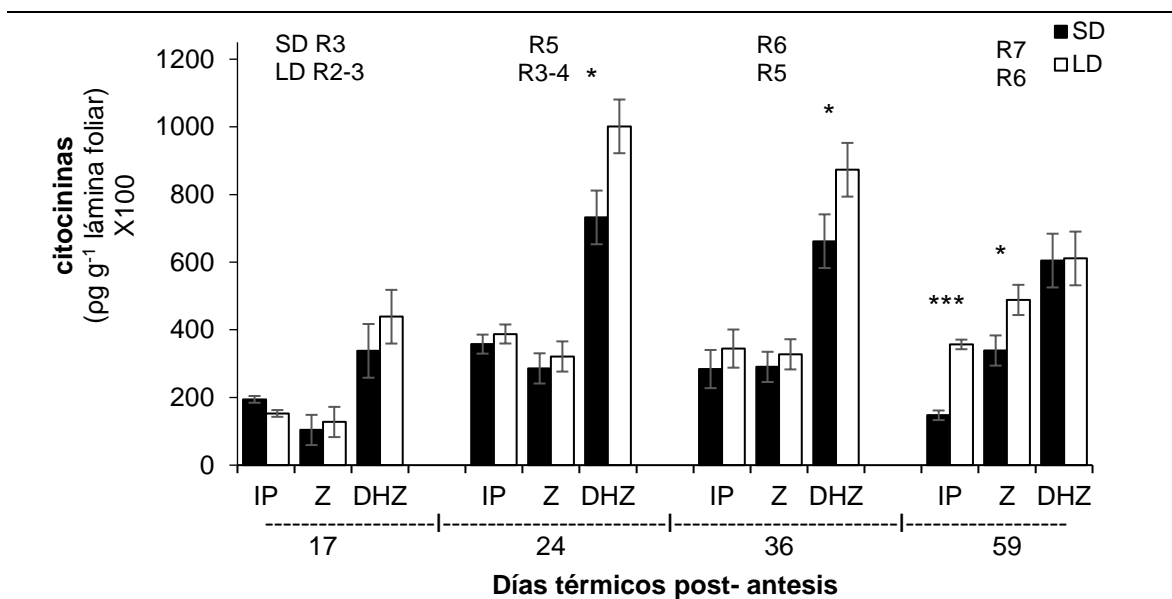


Figura. 5.9. Contenido de citocininas en láminas foliares en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento de campaña 2018-19. Los datos corresponden a la concentración de Isopentenil Adenina (IP), Zeatina (Z) y Dihidrozeatina (DHZ). En la parte superior del gráfico R2-R7 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Las concentraciones foliares de ácido jasmónico (JA) tendieron a ser constantes a lo largo del tiempo en ambos tratamientos durante la post- antesis. La concentración foliar de JA en plantas expuestas bajo SD fue significativamente mayor que en las plantas expuestas en LD en todos los muestreos (Fig. 5.10). Este aumento fue de 72, 99, 86 y 63% a los 17, 24, 36 y 59 dtpa respectivamente bajo SD en comparación de LD (Fig. 5.10). Al

realizar comparaciones entre los mismos estadios fenológicos R5 y R6, existió un aumento significativo (R5 $P < 0.05$; R6 $P < 0.01$) de la concentración de JA foliar en SD en comparación de LD. Por otro lado, las concentraciones de ácido abscísico (ABA) en las hojas tuvieron diferentes tendencias durante la post-antesis entre los tratamientos. En los SD existió un aumento progresivo de la concentración de ABA a lo largo del tiempo, mientras que en LD existió una disminución en la concentración (Fig. 5.10). Consecuentemente, a los 36 y 59 dtpa se registró un incremento de concentración de ABA foliar bajo SD del 80 y 110% respectivamente en relación de LD (Fig. 5.10). Al comparar los mismos estadios fenológicos R5 y R6, también existió un aumento significativo ($P < 0.05$) de la concentración de ABA foliar en SD en relación de LD.

La concentración foliar de la giberelina GA_1 tendió a un incremento hasta el estadio R6 en ambos tratamientos (Fig. 5.10). Posteriormente a R6, el nivel de GA_1 bajo SD disminuyó a su menor valor (en LD no se realizaron mediciones posteriores a este estadio). Las concentraciones de GA_1 a los 17, 36 y 59 dtpa aumentaron significativamente un 45, 40 y 110 % respectivamente bajo LD en comparación de SD (Fig. 5.10). También al comparar entre hojas de plantas en el mismo estadio fenológico (R5 y R6) existió un aumento significativo ($P < 0.05$) de la concentración foliar de GA_1 en LD en relación de SD (Fig. 5.10). Por otro lado, la concentración foliar de la giberelina GA_3 se mantuvo constantes durante la post- antesis en ambos tratamientos, y no existió diferencia en la concentración foliar de GA_3 al comparar en los mismos dtpa y en los mismos estadios fenológicos (Fig. 5.10).

La concentración foliar de ácido salicílico (SA) tendió a disminuir progresivamente durante la post-antesis en ambos tratamientos. No se detectaron diferencias en la concentración foliar de SA en un mismo tiempo de muestreo entre los tratamientos (Fig. 5.10); sin embargo, en los mismos estadios fenológicos R5 y R6, se registró un aumento significativo (R5 $P < 0.001$; R6 $P < 0.01$) en la concentración foliar de SA en SD en comparación de LD. Las concentraciones foliares de ácido indol acético (IAA) se mantuvieron constante y sin diferencia entre los tratamientos hasta los 36 dtpa; posterior a ello, a los 59 dtpa se registró un aumento significativo de un 21% de IAA foliar en plantas expuestas bajo SD en relación a plantas expuestas en LD (Fig. 5.10). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en IAA foliar en los mismos estadios fenológicos entre los tratamientos.

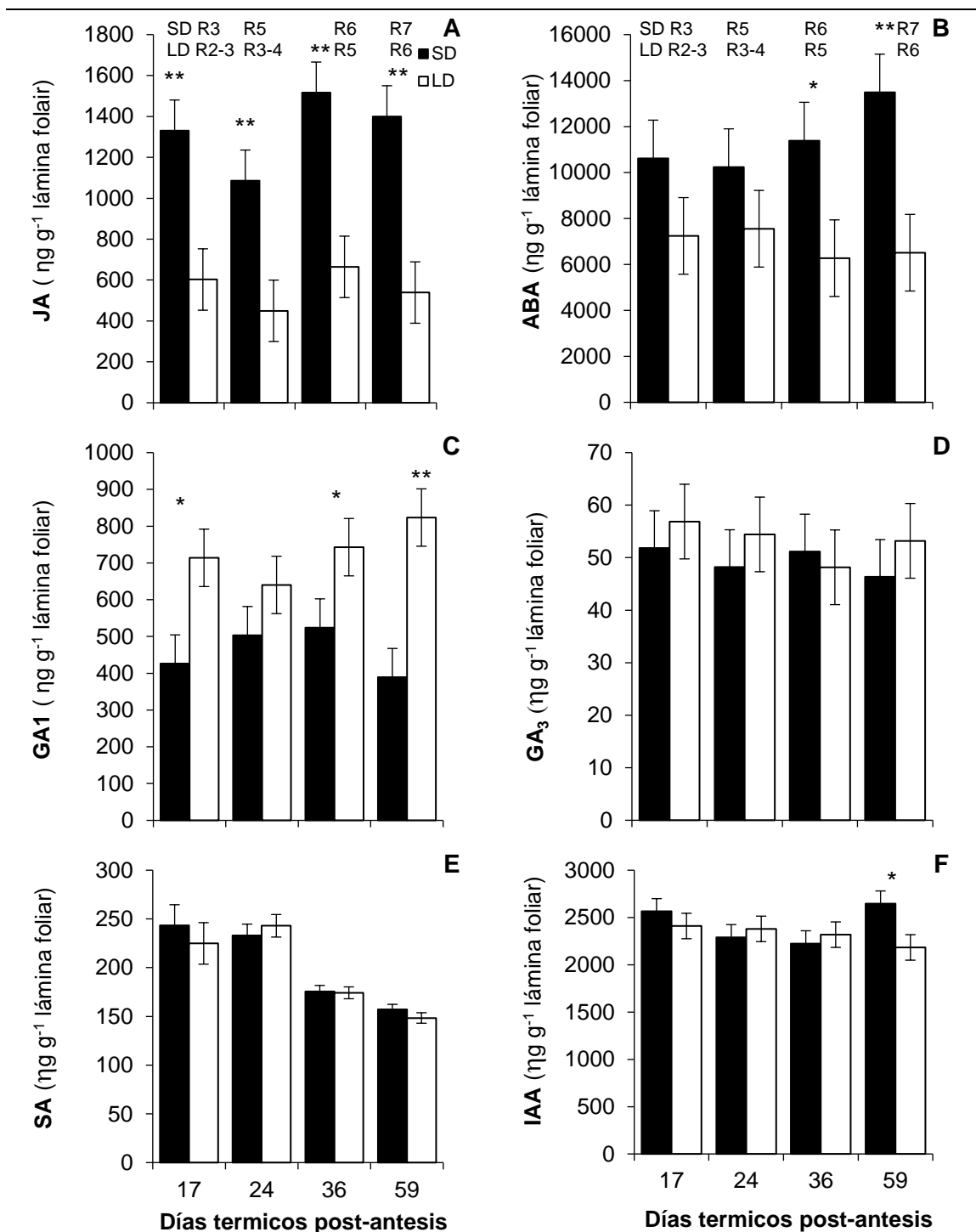


Figura 5.10. Contenido de ácido jasmónico (JA), ácido abscísico (ABA), giberelinas (GA₁ y GA₃), ácido salicílico (SA) y ácido indol acético (IAA) en láminas foliares en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento de campaña 2018-19. (A) JA, (B) ABA, (C) GA₁, (D) GA₃, (E) SA y (F) IAA. En la parte superior del gráfico R2-R7 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a P < 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

5.4. DISCUSIÓN

5.4.1. Aumento en la duración de la etapa de post- antesis y de la biomasa: efectos del fotoperíodo independientes del desarrollo reproductivo de las vainas y granos (efectos directos)

En soja con vainas intactas, la exposición bajo LD posterior a antesis retardó el desarrollo reproductivo de vainas y granos, y consecuentemente alargaron la duración de la etapa de post- antesis. Este efecto de los LD prolongando la post-antesis mediado por el desarrollo reproductivo, es un efecto indirecto del fotoperíodo, y fue consistente con lo registrado en el capítulo II de esta tesis y en reportes previos (Raper & Thomas 1978; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1987; Kantolic & Slafer 2001, 2007; Nico *et al.* 2015, 2016). Por otra parte, la exposición bajo LD y la remoción de vainas (tratamiento de desfrutado) permitieron registrar un efecto directo del fotoperíodo (*i.e.*, independiente del desarrollo reproductivo de las vainas y granos), sobre la duración de la etapa post- antesis. En el tratamiento LD-va la duración desde estadio fenológico R3 (*i.e.*, momento en que se generan y removieron las vainas) hasta la senescencia de las partes vegetativas se prolongó con respecto de SD-va. En sentido similar, Han *et al.* (2006) observaron que la remoción de estructuras reproductivas y la exposición bajo LD mantenían el crecimiento vegetativo al momento que plantas expuestas en SD y sin flores o vainas estaban cerca de la senescencia. Por lo tanto, la mayor duración de la post-antesis bajo LD estuvo mediado en parte por un retardo en el desarrollo reproductivo de las vainas y granos, y por otra parte se registró en forma novedosa en esta tesis un efecto del LD no mediado por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos; ambas respuestas representan un efecto indirecto y directo del fotoperíodo en la duración de la post-antesis.

La exposición de plantas de soja con vainas intactas bajo LD incrementó la producción de la biomasa total (conjunto de biomasa vegetativa y reproductiva) durante la post-antesis en comparación con la exposición en SD. Estos resultados fueron consistentes con el aumento de biomasa total registrada bajo LD post-antesis en el capítulo II en condiciones de campo para esta especie. Por un lado, el incremento en la producción de la biomasa fue producto de la demora del desarrollo reproductivo de vainas y granos, lo que consecuentemente posibilita un aumento en la cantidad de días en que se produce biomasa en los LD post-antesis. El anterior mecanismo en la producción de biomasa es un efecto indirecto del fotoperíodo (*i.e.*, mediado por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos). Por otro lado, en LD post-antesis y al igual que lo observado en el capítulo II, se

registró un cambio en la producción de biomasa diaria considerando todo el período reproductivo (R1- R8) o parte del mismo (Tabla 5.3; Tabla suplementaria 5.4). Por lo tanto, el incremento de la biomasa total no puede ser explicado únicamente por una mayor cantidad de días produciendo biomasa producto de la demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos (*i.e.*, efecto indirecto del fotoperíodo); la modificación en las tasas de crecimiento sugiere un efecto directo del fotoperíodo (*i.e.*, independiente del desarrollo reproductivo de las vainas y granos) sobre la producción de la biomasa total durante la post-antesis. En el anterior análisis y el capítulo II, el efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de biomasa se infiere en plantas que portan estructuras reproductivas, por lo que en sentido estricto no se aísla la influencia del fotoperíodo del desarrollo reproductivo. A partir de ello, el incremento de la producción de biomasa durante post-antesis bajo LD-va (*i.e.*, tratamientos de desfrutados en que se aísla el efecto del fotoperíodo y desarrollo de las vainas) en comparación de SD-va, no solo vuelve a mostrar el efecto directo del fotoperíodo, sino que ratifica la participación de este mecanismo en plantas con estructuras reproductivas intactas. En definitiva, el fotoperíodo afecta la generación de biomasa durante post-antesis tanto por un efecto indirecto (*i.e.*, mediado por el desarrollo reproductivo de vainas y granos) como directo (*i.e.*, no mediado por el desarrollo reproductivo de vainas y granos); el efecto del fotoperíodo no mediado por el desarrollo reproductivo de granos sobre la producción de la biomasa evidenciado por el cambio en las tasas de crecimiento, también se observó en otra especie de “día corto” como “quínoa” *Chenopodium quinoa* Willd (Cap. III), y en las especies de “día largo” “trigo” (*Triticum aestivum* L.), “avena” (*Avena sativa* L.) y “centeno” (*Secale cereale* L.) (Cap. IV), lo que podría representar un mecanismo conservado entre especies.

5.4.2. Demora de la senescencia foliar por efecto indirecto y directo del fotoperíodo en post- antesis

La senescencia foliar estuvo demorada en plantas de soja bajo LD post- antesis en relación de SD evidenciado tanto por una disminución más lenta en la degradación de las clorofilas foliares, un retardo en la abscisión foliar y por una persistencia de la asimilación de CO₂ a saturación lumínica (A_n). En plantas de soja donde se mantuvieron las vainas intactas, tanto en la parte superior del canopeo (*i.e.*, hojas ubicadas en mitad superior del tallo) como en hojas individualizadas (*i.e.*, 0, +1, +2) el inicio del avance de la degradación de las clorofilas y la tasa de avance de la degradación de las clorofilas (ambos determinados a partir del índice de “verdor” SPAD) estuvieron demoradas y ralentizadas respectivamente

en LD en comparación de SD. También en esos dos niveles analizados (*i.e.*, mitad superior del canopeo y hojas individualizadas) la abscisión foliar se observó retrasada bajo LD en comparación de SD. Por otro lado, y al igual que lo reportado en el capítulo II, bajo LD post-antesis, perduró la An por más tiempo que en SD, ligado a un inicio tardío en la disminución de la An y/o por una tasa más lenta de disminución de An. En forma congruente con lo mostrado en el capítulo II, existió una fuerte correlación (representado por una curva de regresión exponencial) entre la tasa de avance de degradación de las clorofilas y la tasa de avance de disminución de la An; esto implica que la demora de la senescencia foliar bajo LD post-antesis fue del tipo funcional (*i.e.*, “no cosmética”; Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Hörtensteiner 2009).

El desarrollo reproductivo de las vainas y granos ejerce un control correlativo sobre la senescencia de las hojas (Leopold *et al.* 1952; Nooden *et al.* 1978, 1990b, 2004; Nooden & Guiamet 1989); esto implica que el desarrollo reproductivo promueve la senescencia foliar (Leopold *et al.* 1952; Lindoo & Nooden 1976, 1977; Nooden *et al.* 1978, 1990; Mondal *et al.* 1978; Crafts-Brandner & Egli 1987a, b; Egli *et al.* 1987; Miceli *et al.* 1995). En los datos presentados en este y en el capítulo II, como se mencionó previamente existe una clara demora en el desarrollo reproductivo de las vainas y granos en plantas expuestas bajo LD post-antesis que se registra junto a la demora funcional de la senescencia de las hojas. Estos datos son congruentes con las observaciones fragmentarias de algunos síntomas de la demora de la senescencia como la retención del canopeo (*i.e.*, demora de la abscisión foliar; Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984b) y el mantenimiento de las clorofilas foliares (Guiamet & Nakayama 1984 a) junto a la demora del desarrollo reproductivo de vainas y granos en plantas de soja expuestas bajo LD post-antesis. En conjunto todas estas observaciones sugieren, que el fotoperíodo participaría modulando la senescencia foliar mediante el control correlativo, y que este mecanismo de acción del fotoperíodo en la senescencia de las hojas sería un efecto indirecto (*i.e.*, mediado por el desarrollo reproductivo de las vainas y granos). Además del efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia foliar, en el capítulo II de esa tesis, se observó en plantas de soja con vainas intactas, que parte de la demora de la senescencia de las hojas no se podía asociar únicamente al atraso del desarrollo reproductivo producido bajo LD post-antesis. Sumado a ello, en los tratamientos de desfrutado (*i.e.*, remoción de vainas), las plantas bajo LD-va tuvieron una demora de la senescencia foliar (evidenciado por el índice de “verdor” SPAD) en comparación con SD-va. Los síntomas de la demora de la senescencia se hicieron evidentes en las hojas individualizadas más apicales (*i.e.*, +1; +2),

y parecería existir un aumento de estos síntomas en sentido apical en las hojas del tallo principal (Fig. 5.4, 5.5). La demora en el “amarillamiento” del canopeo en plantas sin flores o vainas expuestas bajo LD (Han *et al.* 2006) también podrían ser interpretado como un mecanismo independiente del desarrollo reproductivo. Por lo tanto, la demora de la senescencia foliar bajo LD post-antesis independiente del desarrollo reproductivo de las vainas y frutos, demuestra en forma novedosa un efecto directo del fotoperíodo sobre la senescencia de las hojas.

5.4.3. Modificación de la concentración foliar de hormonas asociada a la demora de la senescencia foliar en días largos post-antesis

Con el fin de analizar mecanísticamente la demora en la senescencia foliar bajo LD post- antesis, se estudiaron los niveles foliares de diferentes hormonas. Bajo LD post-antesis la demora funcional de la senescencia foliar registrada en el capítulo II (Fig. 2.3) (y en este capítulo), se asoció a un incremento de la concentración de citocininas alifáticas en las hojas (Fig. 5.9). Esto es consistente con el conocido rol de las citocininas en soja y otras especies retrasando la senescencia de las hojas (Richmond & Lang 1957; Lindoo & Nooden 1978; Dybing & Lay 1981a, b; Nooden 1986; Nooden *et al.* 1979, 1990a, b; Nooden & Letham 1993; Gan & Amasino 1995, 1996; Zwack & Rashotte 2013; Guo *et al.* 2021). Posteriormente a los 40 días térmicos post-antesis (dtpa), donde la demora de la senescencia foliar se evidenció, se registró particularmente un aumento de la concentración de las citocininas alifáticas Zeatinas (Z) e Isopentenil adenina (IP), especialmente bajo LD. Dado que los diferentes tipos de citocininas alifáticas (*i.e.*, bases libres, glucosiladas, ribótidos, ribósidos) tienen diferentes funciones biológicas (Sakakibara 2006; Werner & Schmölling 2009; Zürcher & Müller 2016; Wybouw & De Rybel 2019), es necesario determinar si las formas (variantes) que están aumentadas bajo LD post- antesis se corresponden con las citocininas más activas en la demora de la senescencia de las hojas. En relación a las Z, bajo LD post- antesis se observó un aumento de las bases libres de Z (Fig. suplementaria 5.10), y esto es congruente con la demora de la senescencia foliar reportada en explantos de soja donde se aplicaron estas bases libres (Neumann *et al.* 1983; Garrison *et al.* 1984; Nooden *et al.* 1990b). También, bajo LD post- antesis se detectó un aumento de las Z glucosiladas (O y 9 glucosiladas), formas de las que no se habían registrados cambios en la concentración del líquido xilemático frente a la demora de la senescencia foliar en tratamientos de desfrutado (Nooden *et al.* 1990a); sin embargo, en

otras especies como *Arabidosis thaliana* (L.) Heynh, “tomate” *Solanum lycopersicum* (L.), y *avena* la aplicación de la forma 7 y 9 glucosilada de Z en hojas desprendidas de la planta demoró la degradación de las clorofilas (Hallmark *et al.* 2020; Pokorna *et al.* 2020), efecto que coincide con los datos presentados en este capítulo. Con respecto a las IP, bajo LD post-antesis se incrementó la concentración de IP ribósido (IPrs) y esto es congruente con la demora de la degradación de las clorofilas y la abscisión de láminas foliares y pecíolos en explantos de soja expuestos a esta forma de citocininas (Garrison *et al.* 1984). Por otro lado, el primer compuesto en la vía principal de síntesis de las citocininas es el IP ribótido (IPrb) que posteriormente da lugar a las otras citocininas (Gan & Amasino 1995, 1996). Por lo tanto, el aumento bajo LD post- antesis de IPrb podría estar sugiriendo el aumento del precursor para la generación de otras citocininas que actúan sobre la senescencia foliar. En definitiva, las formas de citocininas que tuvieron aumento bajo LD post- antesis están asociadas a la demora de la senescencia foliar.

Por otro lado, no vinculado con la senescencia foliar, se reportó (Kokubum & Honda 2000; Nonokawa *et al.* 2007) dentro de un mismo racimo de vainas, que la supervivencia (*i.e.*, menor abscisión) de las vainas proximales a expensas de las distales está asociado al aumento de la concentración en las vainas proximales de las citocininas alifáticas, Z (forma base libre) y de Isopentenil adenosina (IPA) (un precursor de IP, Sakakibara 2006). Bajo LD post-antesis se incrementa el número de vainas por nudos y consecuentemente el número de vainas por plantas (Guiamet & Nakayana 1984a, b; Nico *et al.* 2016). En relación a los trabajos anteriores, en este capítulo (y en el Cap. II), bajo LD post-antesis se registró un aumento del número de vainas por planta junto a un incremento en la concentración de citocininas. Particularmente es notorio el aumento en la concentración foliar de Dihidrozeatina (DHZ) bajo LD durante el pleno desarrollo de las vainas (R3-R4), estadio fenológico sensible a la abscisión de las mismas (Jiang & Egli 1993; Westgate & Peterson 1993; Kokubum 2011); por lo que el mayor número de vainas bajo LD podría estar relacionado con el incremento de estas hormonas (disminuyendo la abscisión de las vainas). De todas formas el aumento *per se* de citocininas en hojas no indica necesariamente un aumento de los niveles tisulares en las vainas, pero dado que las mismas provienen mayormente de las raíces y se distribuyen a diferentes destinos por el xilema (Van Staden & Davey 1979; Garrison *et al.* 1984; Nooden *et al.* 1990a, b; Faiss *et al.* 1997), la mayor concentración en hojas podría también existir en vainas; por lo tanto es necesario profundizar en un estudio donde se determine la posible relación entre la concentración de citocininas en vainas y los LD post- antesis.

Bajo LD post-antesis en plantas de soja existió una disminución en la concentración foliar de ácido abscísico (ABA) coincidente con la demora de la senescencia foliar. Esto es consistente con los reportes en los cuales la aplicación de ABA en hojas intactas (Lindoo & Nooden 1978) y en discos de hojas (Guiamet & Giannibelli 1994) aceleran la senescencia foliar, y con el aumento en la concentración de ABA en paralelo a la degradación de las clorofilas al aumentar la edad de las hojas (Samet & Sinclair 1980). Por otro lado, el ABA además de estar involucrado en la senescencia foliar, también está relacionado al control de la conductancia estomática (gs) (Liu *et al.* 2005; Castro *et al.* 2019). El aumento de ABA en plantas expuestas bajo SD a los 39 y 59 dtpa se asociaron con la disminución de la gs (39 dtpa 449.5 vs 543.4 (ns) y 59 dtpa 159.2 vs 255.8 ($P < 0.001$) $\mu\text{moles agua m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para SD y LD respectivamente); esto sugiere que el fotoperíodo (modificando la concentración de ABA) participaría en el control de la conductancia estomática. En soja también se registró que la disminución de ABA (Morandi *et al.* 1990; Gosparini *et al.* 2007; Montechiarini *et al.* 2020) y los LD post-antesis (Guiamet & Nakayama 1984 b) aumentaron la viviparidad de los granos. Dado que el ABA se sintetiza principalmente en hojas y desde allí se puede transportar a diferentes destinos incluyendo las vainas y granos (Setter *et al.* 1980, 1981; Nooden & Obermeyer 1981), la disminución en la concentración de ABA en hojas bajo LD observado en este capítulo, podría estar relacionado con el aumento en la viviparidad de los granos reportado en los trabajos mencionados. Por lo tanto, no se puede descartar que además de la demora de la senescencia foliar, el aumento de ABA bajo LD post-antesis este impactando en otros procesos.

La demora de la senescencia foliar a LD post- antesis estuvo asociada a la mayor concentración de giberelina A_1 (GA_1), sin modificación en la concentración de giberelinas A_3 (GA_3) entre tratamientos. En forma contraria a los datos presentados en este capítulo, se había reportado en soja que la aplicación de GA_3 en explantos (Nooden 1986) o en hojas desprendidas (Dybing & Yarrow 1984) demora la senescencia foliar; sin embargo, en sentido similar al incremento de la GA_1 bajo LD post-antesis, se observó la demora de la senescencia foliar por la aplicación de GA_1 en la especie *Alstroemeria sp.* (Jordi *et al.* 1995; Kappers *et al.* 1998). Por otra parte, la demora de la senescencia foliar en LD también coincidió con una menor concentración de ácido jasmónico (JA). Este resultado es congruente con la aceleración de la senescencia en las hojas de soja, reportado tanto por la aplicación de JA en hojas desprendidas (Guiamet & Gianibelli 1994), como por el incremento de la concentración endógena foliar de JA (Bawa *et al.* 2021). Por otro lado, previo a la evidencia de la demora en los síntomas de la senescencia foliar (Fig. 5.10),

también se registró el aumento y la disminución de GA₁ y JA respectivamente bajo LD post-antesis. Por lo tanto, esto podría sugerir que bajo LD post-antesis además de modificarse la concentración de estas hormonas en relación a la senescencia foliar, otros cambios observados en este tratamiento fotoperiódico podrían responder a la modificación de GA₁ y JA.

En plantas de soja expuestas bajo LD post-antesis disminuyó la concentración de ácido indol acético (IAA) en forma conjunta a la demora de la senescencia foliar. En plantas de soja se han reportado tanto que el ácido 1-naftalenacético (NAA, auxina sintética) no influye sobre la senescencia foliar (Dybing & Lay 1981a, b), como que demora la degradación de las clorofilas y la abscisión de las hojas (James *et al.* 1965; Nooden *et al.* 1979). En este capítulo, la menor concentración de IAA en LD post-antesis y la demora de la senescencia foliar podrían vincularse con la disminución de la síntesis del etileno. En *Lupinus albus* L. el IAA promueve la expresión de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintasa (ACC sintasa) (Bekman *et al.* 2000), enzima limitante de la síntesis del etileno (Wang *et al.* 2002; van der Graaff *et al.* 2006), una hormona ampliamente vinculada a la inducción de la senescencia foliar (Djanaguiraman & Prasad 2010; Lin *et al.* 2007; Taiz 2015; Guo *et al.* 2021). Además, se reportó que la expresión de un receptor tipo kinasa (SARK) de soja inductor de la senescencia en *A. thaliana*, está regulado positivamente tanto por Etileno como IAA, donde esta última actuaría corriente arriba del primero (Xu *et al.* 2011).

La demora en la senescencia foliar bajo LD post-antesis podría estar explicada por el retraso del desarrollo reproductivo de las vainas y granos vinculado a posibles cambios en las concentraciones hormonales. Cuando se realizan comparaciones de la concentración de hormonas considerando el mismo estadio fenológico, que se corresponde con diferentes días térmicos post-antesis producto del retraso del desarrollo (*i.e.*, R6 a los 39 y 59 dtpa en SD y LD respectivamente, período en que es evidente la demora de la senescencia foliar), algunas diferencias encontradas en los niveles de hormonas en mismos dtpa entre tratamientos se mantuvieron y otras no existieron. En el mismo estadio fenológico la diferencia en la concentración de IAA y IP no se registró, mientras que la diferencia en Z, ABA, GA₁ y JA se mantuvieron al igual que lo observado en un mismo dtpa. Esta comparación de similares estadios fenológicos y diferentes dtpa, debe ser tomada con cautela ya que las plantas no están necesariamente expuestas a mismas condiciones ambientales (*i.e.*, su "historia" difiere en términos de las condiciones a las que se vieron expuestas). Con la precaución expresada anteriormente, se podría interpretar que la

participación de IAA y IP en la demora de la senescencia foliar bajo LD estuvo vinculado a la demora del desarrollo reproductivo de vainas y granos, *i.e.*, efecto indirecto del fotoperíodo. En cambio, la participación de Z, ABA, GA₁ y JA en la demora de la senescencia foliar no estaría mediada por el desarrollo reproductivo de vainas y granos, *i.e.*, podría ser un efecto directo del fotoperíodo. De todas formas, desentrañar completamente las relaciones hormonales y su relación causal con el desarrollo reproductivo y el control de la senescencia requerirá de más estudios complementarios en el futuro.

En definitiva, en este capítulo se reportan por primera vez los cambios hormonales en hojas de soja en fotoperíodos no inductivos en post-antesis. Bajo LD post-antesis la demora de la senescencia foliar estuvo asociada al incremento de la concentración de Z, IP, GA₁ y la disminución de ABA, JA, IAA por lo que funcionarían como un grupo “anti-senescencia” y “pro-senescencia” respectivamente. Parte de las modificaciones observadas en la concentración de estas hormonas se mantuvieron al comparar los mismos estadios de desarrollo de vainas y granos y parte no se sostuvieron; esto sugeriría que estas hormonas podrían ser parte del efecto del fotoperíodo independiente (directo) y dependiente (indirectos) del desarrollo reproductivo de las vainas y granos sobre la senescencia foliar.

5.5. CONCLUSIONES

Con lo registrado en este capítulo y en el capítulo II parece claro que existen efectos del fotoperíodo en post- antesis que están mediados y efectos que no están mediados por la demora del desarrollo reproductivo de las vainas y granos. El aumento de biomasa, el cambio en las tasas de producción de biomasa y la demora de la senescencia foliar fue explicado tanto por un efecto indirecto (mediado por el desarrollo reproductivo de vainas y granos) como directo (no mediado por el desarrollo reproductivo de vainas y granos) del fotoperíodo sobre estos procesos. Por otro lado, asociado a la demora de la senescencia foliar a LD post-antesis se incrementó la concentración de un grupo de hormonas “anti-senescencia” y disminuyó la concentración de un grupo de hormonas “pro-senescencia”. Algunas modificaciones en la concentración de estas hormonas se mantuvieron en iguales estadios de desarrollo reproductivo de vainas y granos y otras no, lo que sugeriría que estas hormonas podrían participar en el efecto indirecto y directo del fotoperíodo sobre la senescencia foliar.

CONCLUSIONES GENERALES, CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS Y PERSPECTIVAS FUTURAS

En el presente capítulo se retoman los principales resultados de la tesis con la finalidad de determinar el cumplimiento del objetivo general de la misma a partir de la contrastación de las hipótesis derivadas de los objetivos específicos (Cap. I). Asimismo, se proponen esquemas conceptuales a partir de los diversos resultados obtenidos, de manera de integrarlos en forma articulada. Posteriormente se contextualizan los nuevos resultados en el contexto del conocimiento actual. Finalmente, se plantean diversos interrogantes surgidos de esta tesis y se sugieren posibles abordajes de los mismos en futuras líneas de investigación.

6.1. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

El objetivo general de esta tesis fue “*determinar si los fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis en especies de “día corto” y “día largo” para la floración participan en la regulación de la senescencia foliar y procesos asociados a la misma, y dilucidar posibles mecanismos subyacentes a esta respuesta*”. Para ello se trabajó en primera instancia con el objetivo específico 1 (Cap. I), a partir del cual se determinó que tanto en las especies de “día corto”, “soja” (*Glycine max.* L. Merr.), “quínoa” (*Chenopodium quinoa* Willd.) y “amaranto” (*Amaranthus cruentus* L.), como en las especies de “día largo” para la floración “trigo” (*Triticum aestivum* L.), “cebada” (*Hordeum vulgare* L.), “avena” (*Avena sativa* L.) y “centeno” (*Secale cereale* L.), la exposición a tratamientos fotoperiódicos no inductivos posteriores a antesis demoró el desarrollo reproductivo de frutos y granos (Cap. II-V) (Fig. 6.1). Esta respuesta conservada en todas las especies en estudio, permite aceptar provisionalmente la hipótesis 1 “*Bajo fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis las especies de “día corto” y “día largo” demoran el desarrollo reproductivo de frutos y granos*” (Cap. I).

Posteriormente se abordaron los objetivos específicos 2 y 3 (Cap. I), en los cuales en fotoperíodos no inductivos de la floración aplicados en post-antesis se caracterizó la senescencia foliar a partir de la degradación de las clorofilas, del cambio en la asimilación neta de dióxido de carbono y la abscisión de las hojas durante la post- antesis. En todas las especies de “día corto” estudiadas, los tratamientos fotoperiódicos de día largo (LD, tratamientos no inductivos para estas especies) posteriores a antesis demoraron la degradación de las clorofilas foliares, prolongaron la asimilación neta de dióxido de carbono (An) y retrasaron la abscisión de las hojas (Cap. II, III y V). Por otro lado, también en todas las especies de “día largo” en estudio, la exposición a regímenes fotoperiódicos de día corto (SD, tratamientos no inductivos para

estas especies) posteriores a la antesis demoró la degradación de las clorofilas foliares (Cap. IV). Además, en trigo, avena y centeno bajo SD post- antesis se extendió la An durante la post- antesis (Cap. IV) (Fig. 6.1). Por lo tanto, a partir de los resultados previamente mencionados las hipótesis 2 *“La exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “largo” durante la post-antesis retrasan la degradación de las clorofilas foliares durante este período”* y la hipótesis 3 *“La exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “día largo” posterior a antesis prolongan la asimilación neta de dióxido de carbono”* son provisionalmente aceptadas (Fig. 6.1). Derivada de la contrastación positiva de estas hipótesis (*i.e.*, que existió tanto un retraso en la degradación de las clorofilas foliares como una prolongación de la An) y reforzado por la correlación significativa entre estos dos síntomas de la senescencia (Cap. II-V), surge que la demora de la senescencia foliar en las especies en estudio fue del tipo funcional (*i.e.*, no meramente cosmética). La única aparente excepción fue cebada, donde no se registró una extensión de la An en post- antesis; sin embargo, existió un aumento de la biomasa generada durante este período (ver más adelante), lo que razonablemente sugiere que la An se mantuvo en otras hojas (diferentes de la hoja analizada) por lo que el retraso de la senescencia también podría ser de tipo funcional en esta especie.

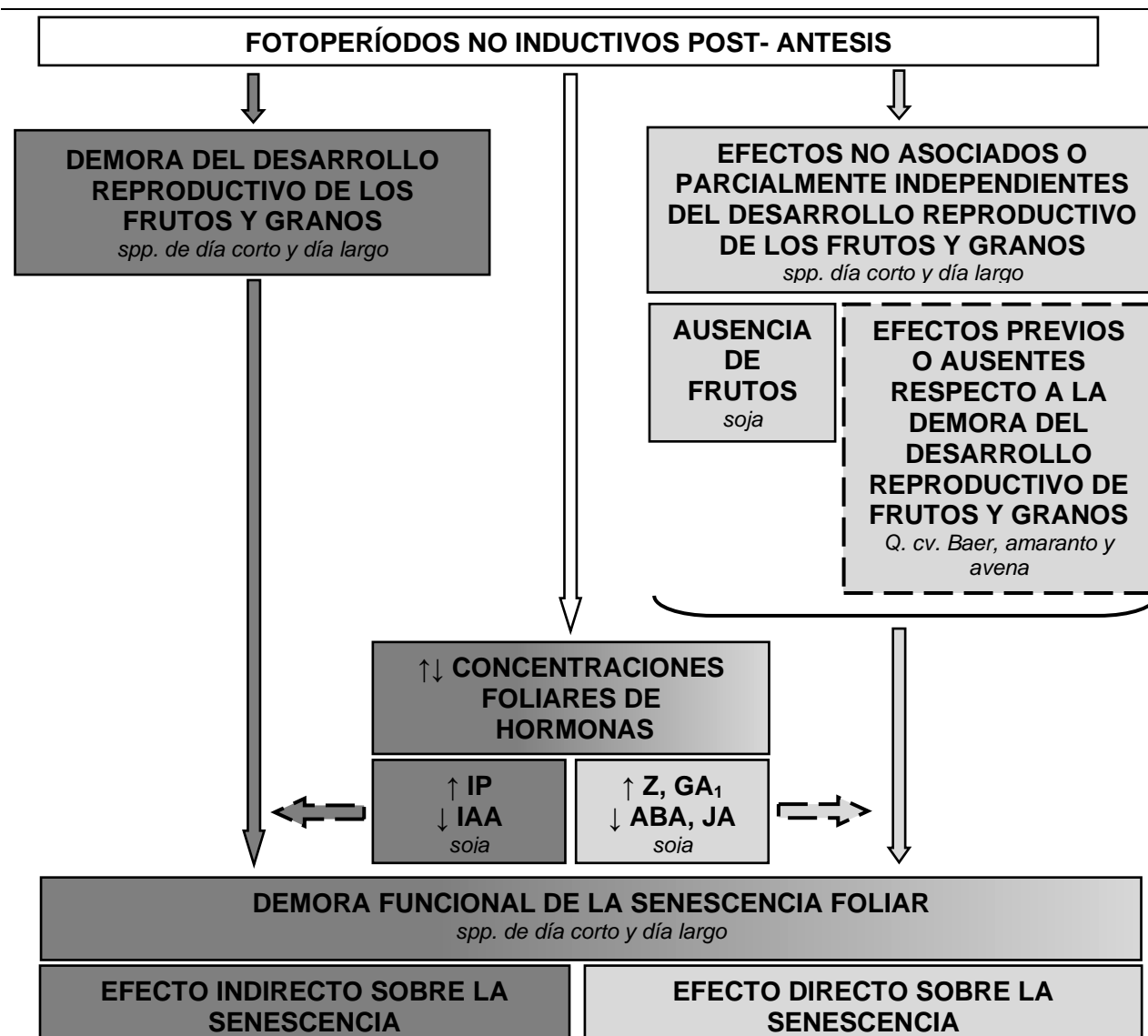


Figura 6.1. Esquema conceptual de los efectos indirectos (mediados por el desarrollo reproductivo de los frutos y granos) y directos (no mediados por el desarrollo reproductivo los frutos y granos) de los fotoperíodos no inductivos sobre la senescencia foliar en post-antesis en especies de “día corto” y “día largo” para la floración. Las flechas gruesas con líneas continuas entre cuadros indican relaciones establecidas en la tesis, las cuales pueden ser de tipo causal o bien ser meras asociaciones. Las flecha delgadas (↑) y (↓) dentro de rectángulos indican incremento y disminución respectivamente. Los rectángulos y flechas gruesas con línea continua de color gris oscuro o gris claro corresponden a modificaciones asociadas a los efectos indirectos e directo del fotoperíodo respectivamente. Los rectángulos de línea continua de color gris oscuro y claro corresponden a modificaciones asociadas al efecto indirecto y directo. El rectángulo y flechas con líneas punteadas corresponde a asociaciones determinadas en la tesis que deben seguir estudiándose. En cada recuadro se detalla en cuáles de las especies estudiadas en la tesis se documentó el proceso mencionado; en caso de decir spp. día corto y spp. día largo se refiere a que el efecto se registró en todas las especies de “día corto” y “día largo” en estudio. Las siglas corresponden a : Isopentenil adenina (IP), zeatina (Z), giberelina 1 (GA₁), ácido indol acético (IAA), ácido abscísico (ABA) y ácido jasmónico (JA).

Establecida la demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos y el retraso funcional de la senescencia foliar, se continuó con el objetivo específico 5 (Cap. I) que buscó determinar si vinculado al retraso de estos procesos existieron cambios en la producción de la biomasa. En la mayoría de las especies de “día corto” y “día largo” analizadas en este estudio, la exposición a fotoperíodos no inductivos provocó un incremento de la biomasa total producida en post- antesis (a excepción de quínoa *cv.* Baer) (Cap. II-V) (Fig. 6.2). La demora de la senescencia foliar, en conjunto con una mayor duración del período de post-antesis (y por lo tanto un mayor período de crecimiento y una mayor cantidad de radiación fotosintéticamente activa acumulada durante esta etapa), son una explicación plausible del aumento de la biomasa total (Cap. II-V). Asociado al incremento de la biomasa total, en todas las especies aumentó la producción de la biomasa vegetativa ante la exposición a fotoperíodos no inductivos posteriores a la antesis (Cap. II-V) (Fig. 6.2). Junto al incremento de la biomasa vegetativa, en general en las especies de “día corto” se generó un aumento en el número de nudos del tallo principal bajo LD (a excepción de quínoa *cv.* Kankolla del año 2019) (Cap. II, III y V). En la especie de “día largo” centeno también se incrementó la generación de nudos por eje, mientras que en trigo y cebada aumentó el número de ejes en plantas expuestas bajo SD. Por otro lado, en relación a la biomasa reproductiva en la mayoría de las especies en estudio aumentó el número de frutos y granos por unidad de superficie o por planta bajo fotoperíodos no inductivos en post-antesis (a excepción de cebada y centeno) (Cap. II-V) (Fig. 6.2). En general en la mayoría de las especies de “día corto” (a excepción de quínoa *cv.* Baer y soja en la campaña 2018-2019), y en las especies de “día largo” trigo y avena el peso de granos por planta o unidad de superficie del suelo se incrementó en fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis (Cap. II-V). También el peso de las estructuras reproductivas que no forman parte de los granos aumentó en soja, quínoa (*cv.* Kankolla), trigo y cebada bajo fotoperíodos no inductivos en post-antesis (Cap. II-V). Vinculado a las anteriores modificaciones de la biomasa reproductiva, la misma se incrementó en soja, quínoa (*cv.* Kankolla), trigo y avena expuesta a fotoperíodos no inductivos (Cap. II-V) (Fig. 6.2). Finalmente, en soja en condiciones de campo, junto al incremento de la biomasa, bajo LD aumentó el contenido de nitrógeno (N) de la biomasa vegetativa y de los granos, sin cambio en su concentración en los órganos (Cap. II) (Fig. 6.2). El mayor contenido de N estuvo explicado en partes iguales tanto por el incremento en absorción de N edáfico como por la fijación biológica de N (Cap. II). A partir de los cambios observados en la biomasa vegetativa y reproductiva expresados anteriormente la hipótesis 5 “*La exposición a fotoperíodos no inductivos de la floración en especies de “día corto” y “día largo” aumentan la producción de biomasa durante la post- antesis*” es provisionalmente aceptada (Fig. 6.2).

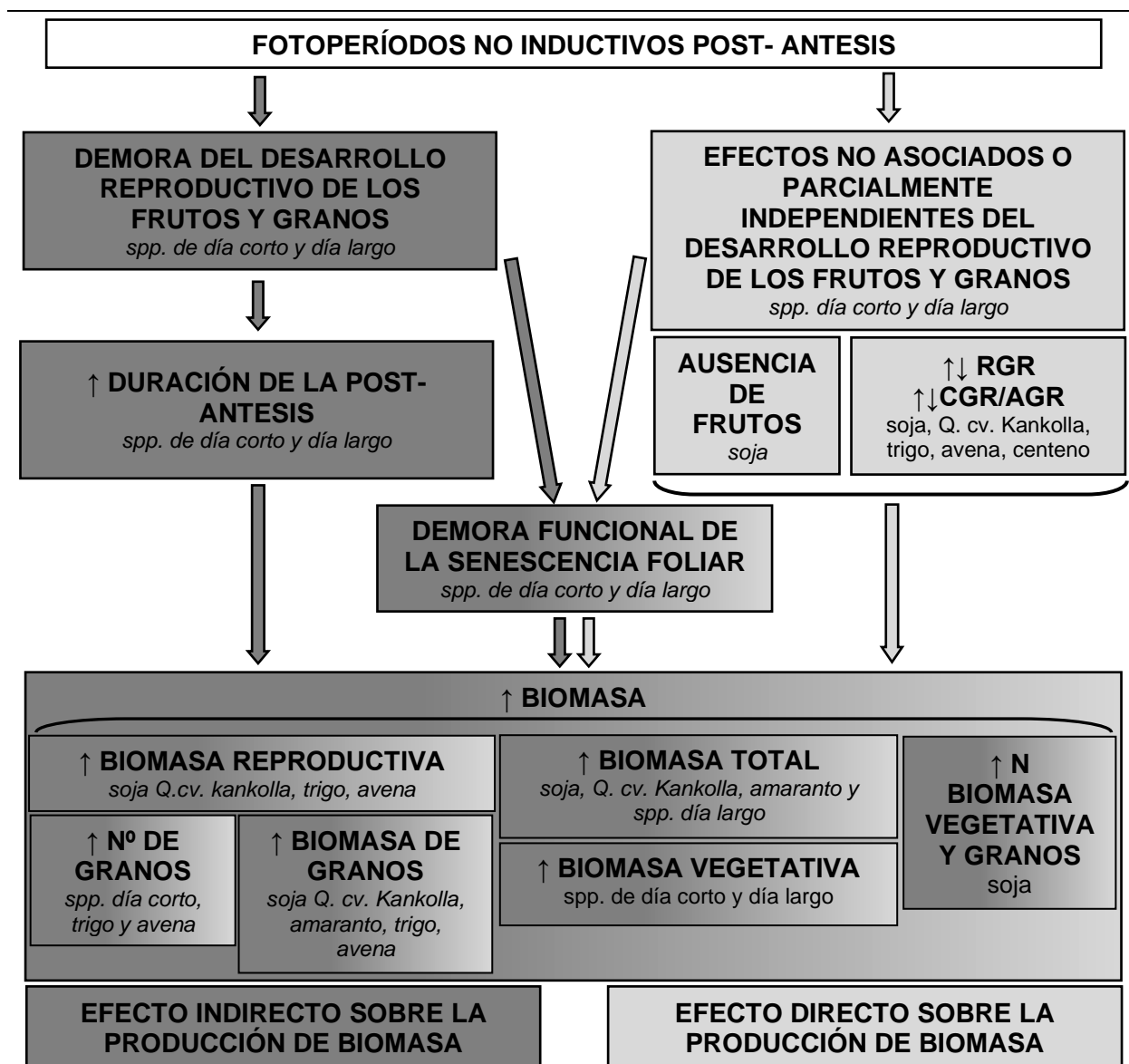


Figura 6.2. Esquema conceptual de los efectos indirectos (mediados por el desarrollo reproductivo de los frutos y granos) y directos (no mediados por el desarrollo reproductivo de los frutos y granos) de los fotoperíodos no inductivos sobre la producción de biomasa en post-antesis en especies de “día corto” y “día largo” para la floración. Las flechas gruesas entre cuadros indican relaciones establecidas en la tesis, las cuales pueden ser de tipo causal o bien ser meras asociaciones. Las flechas delgadas (\uparrow) y (\downarrow) dentro de rectángulos indican incremento y disminución respectivamente. Los rectángulos y flechas gruesas de color gris oscuro o gris claro corresponden a modificaciones asociadas a los efectos indirectos e directo del fotoperíodo respectivamente. Los rectángulos de color gris oscuro y claro corresponden a modificaciones asociadas al efecto indirecto y directo. En cada recuadro se detalla en cuáles de las especies estudiadas en la tesis se documentó el proceso mencionado; en caso de decir spp. día corto y spp. día largo se refiere a que el efecto se registró en todas las especies de “día corto” y “día largo” en estudio. Las siglas corresponden a : tasa de crecimiento de relativo (RGR), tasa de crecimiento de cultivo (CGR), tasa de crecimiento absoluto (AGR).

Para abordar la última parte del objetivo general, *i.e.*, “*dilucidar posibles mecanismos subyacentes a esta respuesta*”, se trabajó por un lado con todas las especies en estudio con los objetivos 6 y 7 (Cap. I), y por otro lado con soja con el objetivo específico 4 (Cap. I). Bajo fotoperíodos no inductivos post-antesis, en todas las especies se produjo un atraso del desarrollo reproductivo de los frutos y granos (Hipótesis 1), asociado a la demora funcional de la senescencia foliar (Hipótesis 2,3) y el aumento de la biomasa (Hipótesis 5); la anterior asociación sugiere que el fotoperíodo actuaría mediado (al menos parcialmente) por la demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos sobre la senescencia de las hojas y la producción de biomasa, lo que implica un efecto indirecto del fotoperíodo sobre estos procesos. Si los efectos del fotoperíodo sobre la demora de la senescencia foliar e incremento de la biomasa estuvieran explicados únicamente por la demora del desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto indirecto), en plantas donde no existen estructuras reproductivas (*i.e.*, frutos y granos) no se observaría el efecto del fotoperíodo. En este sentido en plantas de soja donde las vainas fueron removidas (*i.e.*, se disectó manipulativamente el desarrollo reproductivo de los frutos y granos del fotoperíodo), el fotoperíodo no inductivo posterior a antesis demoró la degradación de las clorofilas foliares y aumentó la producción de biomasa (*i.e.*, biomasa vegetativa ya que las vainas fueron removidas), lo que indica un efecto directo del fotoperíodo sobre estos procesos (Cap. V) (Fig. 6.1, 6.2). Por otro lado, en plantas intactas (*i.e.*, sin remoción de granos) de quínoa (cv. Baer) y amaranto tanto la menor degradación de las clorofilas como la menor disminución de An bajo LD post-antesis se comenzaron a evidenciar previamente a la demora del desarrollo reproductivo de los granos (Cap. III). En avena los SD post-antesis condujeron a una degradación más lenta de las clorofilas foliares en tallo principal y ejes pre-tratamientos sin demorar el desarrollo reproductivo de los granos (Cap. IV). También en esta especie la persistencia de la An bajo SD se registró sin cambios en el desarrollo reproductivo de los granos (Cap. IV) (Fig. 6.1). Los anteriores registros del desfase entre el desarrollo reproductivo y la demora de la senescencia (que deben seguir estudiándose en forma similar a lo realizado en el Cap. V) sugeriría que el efecto directo del fotoperíodo sobre la senescencia también podría participar en otras especies diferentes a soja. También en plantas intactas y en relación al incremento de biomasa durante la post-antesis, si el efecto del fotoperíodo sobre la misma estuviera mediado exclusivamente por la demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos, el incremento de la biomasa se explicaría por un mayor período de crecimiento (*i.e.*, prolongación de la post-antesis) y una producción diaria de biomasa similar entre tratamientos. No obstante, en la mayoría de los casos analizados la tasa de crecimiento relativo (RGR) y las tasas de crecimiento absoluto (CGR, AGR) estuvieron modificadas por los

fotoperíodos no inductivos posterior a la antesis (Cap. II - V), lo que sugiere un efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de biomasa (Fig. 6.2). A partir del registro de la modificación de las tasas de crecimiento se acepta provisionalmente la hipótesis 6 *“Bajo fotoperiodo no inductivo de la floración las tasas de crecimiento cambiarán durante la post-antesis en especies de “día corto” y “día largo””* (Cap. I). En conjunto, todos los resultados anteriores implican que el fotoperíodo actúa modificando la senescencia foliar y la biomasa durante post-antesis tanto en un proceso mediado por el desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto indirecto) como también independientemente del mismo (efecto directo); estos efectos del fotoperíodo sobre estos procesos parecerían no ser exclusivos de soja, y podrían ocurrir en otras especies de “día corto” y “día largo” para la floración. A partir de lo anterior se acepta provisionalmente la hipótesis 7 *“en fotoperiodos no inductivos posterior a la antesis en especies de “día corto” y “día largo” parte del cambio en la senescencia foliar y los procesos asociados a la misma serán vinculados al desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto indirecto) y otra parte serán parcialmente independiente del desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto directo)”* (Cap. I).

Por último, la demora de la senescencia foliar bajo fotoperíodos no inductivos post-antesis estuvo asociada a cambios en niveles foliares de hormonas vegetales. En soja bajo LD posteriores a antesis se incrementó la concentración foliar de las citocininas alifáticas, isopentenil adenina (IP), zeatina (Z) y de las giberelinas (GA_1), que son hormonas relacionadas con la demora de la senescencia foliar (Cap. V). Por el contrario, bajo LD post-antesis se registró una disminución en la concentración de ácido abscísico (ABA), ácido jasmónico (JA) y la auxina ácido indol acético (IAA), hormonas relacionadas con la promoción de la senescencia de las hojas (Cap. V) (Fig. 6.1). A partir de estos registros, la hipótesis 4 *“En soja la exposición a fotoperiodos no inductivos de la floración en post-antesis aumenta y disminuyen las concentraciones de hormonas foliares relacionadas con la demora y aceleración respectivamente de la senescencia de las hojas”* (Cap. I), es provisionalmente aceptada. Ampliando la interpretación de los resultados se observó que los cambios en la concentración de IP y IAA no se sostienen entre tratamientos al comparar los mismos estadios de desarrollo reproductivo de frutos y granos (con diferentes días de muestreo), mientras que los cambios de Z, GA_1 , ABA y JA se mantienen en los mismos estadios de desarrollo reproductivo (Cap. V). En conjunto todos estos resultados sugieren por un lado que las hormonas estarían participando en la demora de la senescencia foliar evidenciada en fotoperíodos no inductivos, y por otro lado podrían ser parte tanto del efecto indirecto como del efecto directo del fotoperíodo (Fig. 6.1).

6.2. APORTES DE ESTA TESIS AL ESTADO DEL CONOCIMIENTO

6.2.1. *Demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos en especies de “día corto” y “día largo” bajo fotoperíodos no inductivos en post-antesis*

Los efectos del fotoperíodo en las plantas se han estudiado principalmente en estadios de desarrollo previos a la floración, sobre todo por su participación en la inducción floral (Borthwick & Parker 1939; Fuller 1949; Guitard 1960; Aspinall 1966; Halse & Weir 1970; Allison & Daynard 1976; Thomas & Rapper 1976, 1983; Klinck & Sim 1977; Koller *et al.* 1977a, b; Hammes & Marshall 1980; Angus *et al.* 1981; 1982; Fowler 1983; Bleken & Skejelvag 1986; Caffaro & Nakayama 1988; Caffaro *et al.* 1988; Slafer & Rawson 1995; 1996; Thomas & Vince-Prue 1997a, b; Henderson *et al.* 1998; Bertero *et al.* 1999a; Miralles & Richard 2000; Miralles *et al.* 2000; 2007; Whitehead *et al.* 2002; Gonzales *et al.* 2003a, b; Peltonen-Sainio *et al.* 2003; Mattson & Erwin 2005; Wang *et al.* 2006; Gelinás & Seguin 2008; Christiansen *et al.* 2010; Bendevis *et al.* 2014a; Alqudah *et al.* 2014; Alzueta *et al.* 2014; Kantar & Porter 2014; Ribeiro *et al.* 2017; Pérez-Gianmarco *et al.* 2018; Kippes *et al.* 2020). En cambio, la influencia del fotoperíodo luego de la generación y apertura de las flores (antesis) ha sido menos estudiada. En todas las especies de “día corto” en estudio en esta tesis, se registró que los LD (fotoperíodos no inductivos) posteriores a la antesis demoraron el desarrollo reproductivo de frutos y granos por lo cual prolongaron la duración de este período (Cap. II, III y V). En soja este efecto había sido documentado (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Asamadu *et al.*, 1998; Kantolic & Slafer 2001, 2005; Nico *et al.* 2015, 2016), pero en la presente tesis se brindan evidencias de cierto nivel de “universalidad” o generalidad del fenómeno; en quínoa este efecto se había registrado en LD previo a antesis (*i.e.*, floración) y solo durante la primera parte de la post-antesis (Bertero *et al.* 1999a; Bendevis *et al.* 2014a; Isobe *et al.* 2018) y en amaranto es la primera vez que se registra. En forma similar, en todas las especies de “día largo” en estudio, la exposición bajo SD (fotoperíodo no inductivo) demoró el desarrollo reproductivo de los granos y prolongó la duración de la post-antesis (Cap. IV). El registro del efecto (en este caso demorando el desarrollo) de los fotoperíodos no inductivos en los cuatro cereales de invierno con los que se trabajó, es particularmente relevante (Cap. IV), ya que en la mayoría de la literatura de referencia (Marcello & Single 1971; Angus *et al.* 1981; Porter *et al.* 1987; Chmielewsky & Kohn 2000; Alzueta *et al.* 2014), se indica que el fotoperíodo no afectaría los procesos posteriores a antesis, y los mismos solo son afectados por la temperatura. En definitiva, en esta tesis y en forma novedosa (hasta donde llega mi

conocimiento) se registra un mecanismo conservado tanto en especies de “día corto” como de “día largo”, en el cual los fotoperíodos no inductivos de la floración aplicados posteriormente a antesis demoran el desarrollo reproductivo de frutos y granos y consecuentemente prolongan la duración de este período.

6.2.2. Demora de la senescencia foliar por efecto indirecto y directo de fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y de “día largo”

La mayoría de los estudios de la etapa final del desarrollo se centran en la senescencia foliar (*i.e.*, degradación del aparato fotosintético) (Hörtensteiner & Matile 2004; Krupinska & Humbert 2004; Koike *et al.* 2004, Ougham *et al.* 2005; Rottet *et al.* 2015; Woo *et al.* 2019; Dominguez & Cejudo 2021) debido a su rol clave en la producción de asimilados que se movilizan hacia los granos durante su llenado (Herold 1980; Wang *et al.* 2001; Nooden *et al.* 2004; Guiboileau *et al.* 2010; Distelfeld *et al.* 2014; Dunford 2015), y por otro lado, por la relevancia en el reciclaje de nutrientes (fundamentalmente, nitrógeno) y su traslado a granos (Sinclair & de Wit 1975, 1976; Mae & Ohira 1981; Warembourg *et al.* 1982; Kelly *et al.* 1988; Fangmeier *et al.* 2000; He *et al.* 2002; Hörstensteiner & Feller 2002; Nooden *et al.* 2004; Davies & Gan 2011; Taiz 2015). La progresión de la senescencia de las hojas coincidentemente con el desarrollo reproductivo dio lugar a la idea del control correlativo que ejercen el desarrollo de los granos sobre la senescencia (Johnson 1862; Leopold *et al.* 1959; Sax 1962; Nooden *et al.* 1978, 2004; Kelly *et al.* 1988; Nooden & Guamet 1989; Fangmeier *et al.* 2000; Davis & Gan 2011; Taiz 2015; Gan 2018); El mencionado control correlativo fue ampliamente contrastado al registrarse la demora de la senescencia foliar frente a la disminución de la tasa de desarrollo de los granos o de la ausencia de estructuras reproductivas (Leopold *et al.* 1959; Moss 1962; Nosberger & Thorne 1965; Lindoo & Nodden 1976, 1977; Nooden *et al.* 1978, 1990; Mondal *et al.* 1978; Biswas & Choudhuri 1979; Feller *et al.* 1979; Ho *et al.* 1987; Crafts-Brandner & Egli 1987 a,b; Khana-Chopra & Shina 1987; Biswas & Mandal 1988; Miceli *et al.* 1995; Borrás *et al.* 2003; Han *et al.* 2006; Semwal & Khana-Chopra 2018).

Tomando en cuenta el control correlativo de la senescencia y la demora en el desarrollo reproductivo de frutos y granos bajo LD post-antesis reportado en algunas especies (como se describió previamente en 6.2.1), la participación del fotoperíodo modulando la senescencia era probable. A pesar de esto, pocos trabajos, y solamente de forma colateral (*i.e.*, no siendo el objetivo de la investigación) registraron síntomas aislados de la modificación de la senescencia de las hojas en fotoperíodos no inductivos posteriores a la antesis (Thorne *et al.* 1968; Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guamet & Nakayama 1984a, b; Christiansen *et al.* 2010). En

este contexto, el estudio sistemático de la senescencia foliar en especies de “día corto” y “día largo” en plantas expuestas a fotoperíodos no inductivos luego de la antesis es novedoso. En todas las especies con las que se trabajó en esta tesis se registró que asociado al retraso del desarrollo reproductivo de frutos y granos bajo fotoperíodos no inductivos posteriores a antesis se demoró la degradación de las clorofilas foliares (Cap. II-V). Junto a la degradación más lenta de las clorofilas persistió la asimilación del dióxido de carbono, por lo cual la demora de la senescencia fue del tipo funcional (*i.e.*, no meramente cosmética, Thomas & Smart 1993; Thomas & Howarth 2000; Morita *et al.* 2009) (Cap. II-V). También en las especies de “día corto” donde existe la abscisión foliar, se observó la demora de la misma, otro síntoma del proceso de senescencia de las hojas (Cap. II, III y V).

Por otro lado, y a pesar de la influencia del desarrollo reproductivo sobre la senescencia foliar, no todos los síntomas de la demora de la senescencia en fotoperíodos no inductivos pudieron ser asociados al retraso del desarrollo de frutos y granos. En plantas de soja donde se removieron las vainas (*i.e.*, no se permitió el desarrollo reproductivo) la exposición a fotoperíodos no inductivos demoró la senescencia de las hojas (Cap. V). También en plantas intactas (*i.e.*, sin tratamiento manipulativo de remoción de frutos y granos) tanto de “día corto” como de “día largo” expuestas a fotoperíodos no inductivos se registró que algunos síntomas de la demora de la senescencia existieron desfasados de la demora del desarrollo reproductivo de frutos y granos (Cap. II-IV). En conjunto los datos de esta sección indican que el fotoperíodo actúa modulando la senescencia foliar tanto mediado por el desarrollo reproductivo de frutos y granos (efecto indirecto) como también no mediado o parcialmente independiente del desarrollo reproductivo de estos últimos (efecto directo).

6.2.3. Participación de las hormonas vegetales en la demora de la senescencia foliar en fotoperíodos no inductivos en post-antesis en soja

La senescencia foliar es un proceso regulado en forma compleja, que integra señales exógenas, *v.g.*, el fotoperíodo, con cambios a nivel endógeno, como lo pueden ser las modificaciones de la concentración de hormonas vegetales (Nooden 2004; Lin *et al.* 2007; Taiz 2015; Kim *et al.* 2018; Woo *et al.* 2019). Los diferentes grupos de hormonas vegetales se han asociado tanto a la promoción como a la demora de la senescencia de las hojas (Richmond & Lang 1957; Whyte & Luckwill 1966; Goldthwaite & Laetsch 1968; Mittelheuser & Van Stevenick 1971; Nooden *et al.* 1979, 1990a, b; Gepstein & Thimman 1980; Ueda & Kato 1980; Weidhase *et al.* 1987; Phartier 1990; Quirino *et al.* 1999; Lim *et al.* 2007; Chen *et al.* 2014; Taiz 2015; Kim *et al.* 2017; Woo *et al.* 2019; Guo *et al.* 2021). A pesar de ello, no existen reportes previos de la

relación entre la demora de la senescencia foliar registrada en fotoperíodos no inductivos (sección 6.2.2) y la participación de las hormonas vegetales. En soja la exposición bajo LD durante la post-antesis demoró la senescencia foliar junto a un incremento de las concentraciones de las citocininas zeatina (Z) e isopentenil adenina (IP) y la giberelina 1 (GA₁); en cambio la concentración foliar de ácido abscísico (ABA), ácido jasmónico (JA) y ácido indol acético (IAA) disminuyó bajo LD, comparada con SD (Cap. V). El incremento de Z, IP y GA₁ y la disminución de ABA, JA, IAA asociado a la demora de la senescencia, sugiere que actuarían como un grupo “anti-senescencia” y “pro-senescencia” respectivamente bajo la influencia de LD post-antesis (Cap. V). También en relación con la demora de la senescencia foliar, fue interesante notar que las diferencias en la concentración de las hormonas Z, GA₁, ABA y JA, se sostienen entre tratamientos cuando se las analizan en los mismos estados fenológicos (*i.e.*, R5 y R6 en SD y LD se corresponden a diferentes días de muestreos), mientras que las diferencias en IP y IAA no se mantienen (Cap. V). Una interpretación cuidadosa (*i.e.*, dado que los muestreos en diferentes días podría incluir además del fotoperíodo el efecto de otros factores) es que Z, GA₁, ABA y JA estarían participando en forma independiente del desarrollo reproductivo de frutos y granos, *i.e.*, participarían en el efecto directo del fotoperíodo en la demora de la senescencia; mientras que IP y IAA actuarían más bien asociadas a la demora del desarrollo reproductivo de frutos y granos, *i.e.*, en el efecto indirecto del fotoperíodo sobre la senescencia foliar (Cap. V).

Por último, si bien no fue un objetivo de esta tesis entender otras respuestas fisiológicas más allá de la demora de la senescencia foliar en relación a las hormonas vegetales en fotoperíodos no inductivos, se observaron previo a la demora de la senescencia cambios en la concentración de algunas hormonas que sugerirían vínculos con otros procesos fisiológicos modificados por el fotoperíodo. Se reportó dentro de un mismo racimo de vainas, que la supervivencia (*i.e.*, menor abscisión) de las mismas está asociada al incremento de la concentración de citocininas (Kokubum & Honda 2000; Nonokawa *et al.* 2007). En esta tesis a LD se registró un aumento en la concentración de dihidrozeatina (DHZ) en hojas en períodos sensibles a la abscisión de las vainas, lo que podría explicar el incremento del número de vainas bajo LD (Cap. II y V). A pesar de que el aumento de DHZ se evidenció en hojas (*i.e.*, no se realizaron mediciones en vainas), dado que las citocininas se producen principalmente en las raíces y desde allí se distribuyen a otros órganos (Van Staden & Davey 1979; Garrison *et al.* 1984; Nooden *et al.* 1990a, b; Faiss *et al.* 1997), no se puede descartar que el incremento de la concentración a LD registrado en las hojas también se esté dando en las vainas. También relacionado con el desarrollo reproductivo, en esta tesis se determinó una disminución de la

concentración de ABA foliar a LD post-antesis (Cap. V), coincidente con la disminución en el contenido de ABA en las semillas inmaduras (Morandi *et al.* 1990; Gosparini *et al.* 2007; Montechiarini *et al.* 2020), lo que podría relacionarse con el reporte del aumento en la viviparidad de las semillas en esta condición fotoperiódica (Guiamet & Nakayama 1984b). Estos resultados (que deben seguir profundizándose en estudios futuros), sugieren que el fotoperíodo modifica la concentración de hormonas, las cuales además de actuar en la modulación de la senescencia foliar actuarían en otros procesos fisiológicos.

6.2.4. Incremento de la producción de biomasa por efecto indirecto y directo de fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y “día largo”

Si bien no abundan los trabajos sobre la influencia de fotoperíodo no inductivos posteriores a la antesis (como se explicitó en la sección 6.2.1), la mayoría de ellos se han realizados en soja en los cuales se reportó alguna modificación en la producción de la biomasa. La exposición de soja bajo LD post-antesis incrementa la producción de biomasa total y de la biomasa vegetativa (Thomas & Raper *et al.* 1976; Raper & Thomas 1978; Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Nico *et al.* 2015). Junto a la mayor producción de biomasa vegetativa aumenta la cantidad de nudos generados en las plantas (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016), lo que posibilita el incremento en el número de vainas y semillas en las plantas (Cure *et al.* 1982; Guiamet & Nakayama 1984a, b; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016). Por otro lado, en otra especie de “día corto” como quínoa los LD post-antesis aumentaron la altura de las plantas (Christiansen *et al.* 2010); mientras que en los cereales de invierno (trigo, cebada y avena) los SD post-antesis en general disminuyeron la producción de la biomasa (Guitard 1960; Klinck & Sim 1977; Thorne *et al.* 1979).

En esta tesis los registros en soja del incremento en la producción de biomasa bajo LD post-antesis tanto en condiciones experimentales de campo (Cap. II) como en condiciones semicontroladas de invernáculo (Cap. V) son consistentes con los reportes previamente mencionados. Por otro lado, por primera vez en condiciones de campo se determinó un incremento en el contenido de N durante la post-antesis bajo LD (Cap. II). El aumento pareció seguir el incremento de la biomasa total durante la post-antesis, por lo que la concentración de N en la biomasa vegetativa y granos no cambió por el tratamiento fotoperiódico (Cap. II).

También se determinó que bajo LD post-antesis el aumento en el contenido de N fue sostenido en partes iguales tanto por una mayor absorción de N edáfico como por la fijación biológica de N (Cap. II). En general, para quínoa como amaranto se reporta en forma novedosa el aumento en la producción de biomasa total y el incremento de la biomasa vegetativa. Además, en estas dos especies se incrementó la producción de granos bajo LD post-antesis. En todas las especies de “día largo” estudiadas en esta tesis, la exposición bajo SD posterior a antesis aumentó la producción de la biomasa total y la biomasa vegetativa (Cap. V). La mayor biomasa vegetativa bajo SD se asoció principalmente a una mayor generación de ejes (trigo y cebada) o a ejes más pesados (centeno) (Cap. V). En relación a la biomasa reproductiva, bajo SD post-antesis en trigo y avena aumento el número de semillas por plantas lo que se reflejó en un incremento del peso de semillas por planta (Cap. V).

El incremento de la producción de biomasa bajo fotoperíodos no inductivos tanto en especies de “día corto” como de “día largo”, permite generalizar entre las especies algunos mecanismos de acción del fotoperíodo en relación a la generación de la biomasa. Por un lado, la imposición en antesis de fotoperíodos no inductivos retardaron el desarrollo reproductivo de frutos y granos y consecuentemente prolongaron la duración de la post-antesis (Cap. II-V). La prolongación de la post-antesis extiende el tiempo de crecimiento de las plantas (exponiéndolas a una mayor acumulación de radiación fotosintéticamente activa) que junto con la demora funcional de la senescencia foliar (*i.e.*, la duración de la superficie fotosintética por más tiempo) explican razonablemente el aumento de la biomasa total registrada en los fotoperíodos no inductivos (Cap. II-V). Este mecanismo funcionaría mediado por el desarrollo reproductivo de frutos y granos por lo que es un efecto indirecto del fotoperíodo sobre la producción de la biomasa. Por otro lado, en la mayoría de las especies en estudio la imposición a fotoperíodos no inductivos modificó la producción de biomasa diaria (*i.e.*, RGR, CGR o AGR) (Cap. II-V), y particularmente en soja donde se removieron las vainas (*i.e.*, se separó manipulativamente el efecto del fotoperíodo del efecto del crecimiento reproductivo) también se incrementó la producción de biomasa durante la post-antesis (Cap. V). Por lo tanto, también los fotoperíodos no inductivos actúan modificando la producción de la biomasa en forma independiente del desarrollo reproductivo de frutos y granos, lo que indica un efecto directo del fotoperíodo sobre este proceso.

6.3. NUEVOS INTERROGANTES Y POSIBLES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Si bien los resultados reportados en la presente tesis son un importante insumo para comprender mecanismos fisiológicos, claramente la aplicación de fotoperíodos no inductivos a

cultivos extensivos es logística y económicamente inviable, lo cual tampoco era un objetivo de la tesis. Sin embargo, estos nuevos conocimientos, pueden servir para dilucidar gran parte del mecanismo de acción del fotoperíodo, lo que posibilitaría que en fotoperíodos naturales se “mimeticen” los efectos de los fotoperíodos no inductivos en post-antesis contribuyendo a la mejora en el rendimiento de los cultivos en el futuro.

6.3.1. Percepción de los *fotoperíodos no inductivos en post-antesis en especies de “día corto” y de “día largo”*

En esta tesis se demostró que en varias especies la percepción del fotoperíodo persiste en la etapa posterior a la antesis (Cap. II-V); sin embargo, el mecanismo responsable de la percepción de este factor ambiental posterior a antesis se desconoce. En la percepción del fotoperíodo previo a antesis participan los fotorreceptores ubicados en las hojas (Cajlachjan 1936 en Leopold 1959; Borthwick & Parker 1938; Bonner & Thurlow 1949; Shanmugasundaram *et al.* 1979; Thomas & Vince Prue 1997a, b; Mocker *et al.* 2003; Song *et al.* 2015; Serrano-Bueno *et al.* 2017; Dou & Niu 2020). Los fotorreceptores son funcionales dependiendo de la presencia/ ausencia de luz durante el día (*i.e.*, fotoperíodo), en particular la existencia de la luz azul (λ 400- 499 nm) y la roja (λ 600- 740 nm) (Mocker *et al.* 2003; Turck *et al.* 2008; Taiz & Wigge 2015; Dou & Niu 2020). Los fitocromos (phy) y criptocromos (cry) son los fotorreceptores de luz roja/roja lejana y azul respectivamente (Mocker *et al.* 2003; Turck *et al.* 2008; Taiz & Wigge 2015; Dou & Niu 2020), que al estar activos estabilizan la proteína CONSTANS (CO) que induce la expresión de FLOWERING LOCUS T (FT) (Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015; Song *et al.* 2015; Serrano-Bueno *et al.* 2017), que luego de moverse por floema hasta los meristemas apicales promueve la floración (Turck *et al.* 2008; Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015; Serrano-Bueno *et al.* 2017). Posteriormente a antesis, se reportó en soja de un grupo de madurez muy sensible al fotoperíodo (GM IX), que la interrupción de la noche con un pulso de luz roja tenía similares efectos que LD post-antesis (Han *et al.* 2006), lo que sugeriría la participación del fitocromo en esta respuesta. Por lo tanto, sería interesante determinar si los mismos fotorreceptores participan también en la etapa posterior a antesis, pudiendo ser parte del mecanismo subyacente a la demora funcional de la senescencia foliar y procesos asociados a la misma en los fotoperíodos no inductivos reportadas en esta tesis. Para ello, se podría trabajar por un lado con la soja prolongando el fotoperíodo posterior a antesis con luz monocromática roja o azul y medir el desarrollo de la senescencia y la producción de la biomasa, y de esta forma determinar la participación de fitocromos y/o criptocromos. De

acuerdo al resultado anterior, se podría prolongar el fotoperíodo con una luz monocromática roja lejana (λ 710-740nm) para determinar la participación de la forma Pr o Pfr del fitocromo. Por otro lado, en un trabajo exploratorio que realicé con *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh se registró que los fotoperíodos no inductivos retrasaron la senescencia de toda la planta, de la roseta basal de hojas e incrementaron el número de silicuas (*i.e.*, frutos) por planta (Kelly *et al.* 2021). En esta especie, el phy A y cry 2 están involucrados en la inducción de la floración en los LD (Mocker *et al.* 2003; Turck *et al.* 2008; Taiz & Wigge 2015). Por lo tanto, sería interesante exponer a fotoperíodos no inductivos a mutantes de estos y otros fotorreceptores (*i.e.*, phy B, C, D y E; cry 2, Song *et al.* 2015; Ahmad 2016), para determinar particularmente cuál de los fitocromos o criptocromos está participando en la demora de la senescencia foliar en post-antesis.

6.3.2. Participación de CONSTANS (CO) y FLOWERING LOCUS T (FT) en la transición de los meristemas y desarrollo de la senescencia foliar en especies de “día corto” y “día largo” en fotoperíodos no inductivos en post-antesis

En soja, los LD posteriores a antesis generan una demora de la transición de los meristemas (*i.e.*, de aquellos meristemas que todavía no están diferenciados) desde un estadio vegetativo a uno reproductivo (Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988), e incluso a LD se ha reportado una reversión (*i.e.*, de aquellos meristemas ya diferenciados) desde el estadio reproductivo al vegetativo (Washburn & Thomas 2000; Han *et al.* 2006). Esta demora en la transición de los meristemas posibilita el aumento en el número de nudos (Guiamet & Nakayama 1984a, b; Caffaro & Nakayama 1988; Morandi *et al.* 1988; Kantolic & Slafer 2001, 2005, 2007; Kantolic *et al.* 2013; Nico *et al.* 2015, 2016), sitios potenciales para la generación de más flores y posteriormente más vainas y granos en soja. Sin embargo, el mecanismo que explica la demora en la transición o reversión de los meristemas en fotoperíodos no inductivos persiste sin resolver. En *Arabidopsis thaliana*, la transición de los meristemas desde un estado vegetativo al reproductivo está dada por el aumento de la proteína FT (codificada por el gen Flowerin Locus T), que se sintetiza en las hojas y por medio del floema llega a los meristemas caulinares, tal como fue descrito en 6.3.1. (Taiz & Wigge 2015; Song *et al.* 2015; Serrano-Bueno *et al.* 2017; Gonzales Suarez *et al.* 2020; Liu *et al.* 2021). En esta especie se ha reportado que la disminución de la expresión FT se asoció con la terminación de la floración (Miryeganeh *et al.* 2018). Gonzales-Suarez *et al.* (2020) hipotetizan que en las especies monocárpicas la disminución de los niveles de FT podría revertir los meristemas desde un

estado reproductivo a uno vegetativo al igual que lo que pasa estacionalmente en las especies policárpicas. Por otro lado, la regulación positiva de FT depende de la estabilización de la proteína CO por medio de la activación de los fotorreceptores dependientes de la presencia de luz (*i.e.*, fotoperíodo) tal como fue descrito en 6.3.1. (Roldan & Zapater 2008; Taiz & Wigge 2015; Song *et al.* 2015; Serrano-Bueno *et al.* 2017). Serrano-Bueno *et al.* (2021), sugieren que en los fotoperíodos inductivos, la estabilización de CO no solo induce la floración, sino que participaría en la senescencia al interactuar con hormonas (JA, ABA, etileno) relacionadas con el avance de la misma. En congruencia con los anteriores reportes, en esta tesis en fotoperíodos no inductivos en soja se registró una prolongación del estadio de generación y apertura de flores, en conjunto con un aumento en el número de nudos del tallo principal y de vainas por planta junto a la demora funcional de la senescencia (Cap. II y V). En *Arabidopsis thaliana* (como se informó en sección 6.3.1) también en fotoperíodos no inductivos se registró un aumento en el número de silicuas y demora de la senescencia (Kelly *et al.* 2021). Por lo tanto, sería interesante determinar la expresión de los genes FT y CO (o sus ortólogos) en hojas y meristemas en *Arabidopsis thaliana* y en soja ante la exposición a fotoperíodos no inductivos. Estos datos serían útiles para comprender la relación entre el fotoperíodo, la expresión de FT y CO, y la demora en la transición de los meristemas y la senescencia foliar.

6.3.3. Síntesis, transporte y degradación de hormonas vegetales modificadas bajo fotoperíodos no inductivos en post-antesis en soja

Una vez percibido el fotoperíodo en las hojas, lógicamente se tienen que desencadenar mecanismos fisiológicos que, en última instancia, se evidencian como el retraso funcional en la senescencia foliar y procesos asociados a la misma ante fotoperíodos no inductivos posterior a antesis (Cap. II-V). Particularmente en la soja, donde se determinó la concentración de hormonas vegetales se registró que la exposición bajo LD posterior a antesis modificó la concentración de las mismas en las hojas, lo que indica que podrían ser parte del mecanismo subyacente a las respuestas observadas (Cap. V). La síntesis de hormonas ocurre en diferentes órganos vegetales (Sakakibara 2006; Zhao 2010; Gupta & Chakrabarty 2013; Zucker & Muller 2016; Leyser 2017; Binenbaum *et al.* 2018; Kuromori *et al.* 2018; Ali *et al.* 2020; Ghorbel *et al.* 2021), y actúan a corta distancia (*i.e.*, vía parácrina) y/o se transportan largas distancias hasta su sitio de acción (Faiss *et al.* 1997; Sakakibara 2006; Werner & Schmölling 2009; Zhao 2010; Zucker & Muller 2016; Leyser 2017; Kieber & Schaller 2018; Binenbaum *et al.* 2018; Kuromori *et al.* 2018; Ruan *et al.* 2019; Wybouw & De Rybel 2019; Ali *et al.* 2020). Teniendo en cuenta estos reportes, podría ser relevante estudiar en soja la expresión de genes

codificantes de enzimas claves en las vías de síntesis y degradación de las hormonas que estuvieron modificadas (IP, Z, DHZ, GA₁, IAA, JA, ABA) bajo los fotoperíodos no inductivos. Los genes candidatos de enzimas claves relacionadas con la síntesis serían Isopentenil transferasa (Gan & Amasino 1995, citocininas), GA20 y GA3 oxidasa (Smith *et al.* 1990; Hedden & Kamiya 1997, giberelinas), Triptófano aminotransferasa y ácido indol 3 acético flavina monooxigenasa (Cheng *et al.* 2007; Stepanova *et al.* 2008, IAA), 9 cis epoxycarotenoide dioxigenasa (Schwartz *et al.* 1997, ABA) y aleno-óxido sintasa (Wasternack & Hause 2013, JA). Considerando el catabolismo de estas hormonas, los genes de las enzimas de degradación serían citocinina oxidasa (Jones *et al.* 1997, citocininas), GA2 oxidasa (Hedden & Kamiya 1997, giberelinas), auxina oxidasa (Beffa *et al.* 1990, IAA), ácido abscísico 8` hidrolasa (Krochlo *et al.* 1998, ABA) y la hidrolasa de isoleucina de ácido jasmónico (Woldemariam *et al.* 2012, JA). En una segunda etapa, dada la influencia que tuvo la demora en el desarrollo reproductivo sobre la senescencia y procesos asociados a la misma en fotoperíodos no inductivos (Cap. II-V), sería interesante determinar la concentración de hormonas y la expresión de genes que participan en su síntesis y degradación en las vainas y semillas de soja en diferentes estadios fenológicos. En una tercera instancia y teniendo en cuenta los resultados encontrados en hojas y vainas y granos, sería útil poder determinar el posible cambio en la concentración de las hormonas en fluido xilemático y floemático en fotoperíodos no inductivos. Los resultados de esta etapa de estudio podrían revelar la conexión entre el atraso en el desarrollo reproductivo de vainas y granos y la demora funcional de la senescencia en las hojas. Por último, se podría focalizar en una hormona (o conjunto de hormonas) de acuerdo a los resultados de las etapas anteriores, y realizar aplicaciones foliares en soja en fotoperíodos inductivos posterior a antesis (*i.e.*, fotoperíodo naturales), con el objetivo de intentar “mimetizar” los efectos de los fotoperíodos no inductivos en condiciones reales de cultivo.

6.3.4. Estudio de la variabilidad genética para las respuestas al fotoperíodo en post-antesis en soja e identificación de QTL (“quantitative trait loci”) responsables

La aplicación agronómica de las respuestas de las plantas, particularmente de soja, a los fotoperíodos no inductivos en post-antesis requeriría poder extender el período post-antesis, aumentar la generación de vainas y demorar la senescencia del canopeo sin afectar el tiempo entre emergencia y floración. Algunas evidencias (Criswell & Hume 1972; Nico *et al.* 2019) sugieren que existe cierta, aunque limitada, independencia entre las respuestas fotoperiódicas relacionadas con la inducción floral y el desarrollo post-antesis. Dos aproximaciones que se podrían ensayar para determinar si las respuestas fotoperiódicas en pre- y post-antesis son

separables genéticamente serían por un lado comparar la sensibilidad fotoperiódica en pre- y post-antesis en diversos cultivares de soja de los GM IV y V (donde los efectos positivos de los fotoperíodos extendidos en post-floración son más claros); por otro lado, utilizar poblaciones de mapeo de QTL para identificar regiones cromosómicas que confieran mayor sensibilidad al fotoperíodo particularmente en post-antesis. Estas investigaciones permitirían conocer qué posibilidades hay de modificar las respuestas al fotoperíodo en post-antesis sin afectar el ciclo a floración. Por otra parte, dado que los efectos indirectos del fotoperíodo están muy relacionados con la duración del período post-antesis, sería interesante conocer si hay variabilidad entre cultivares para la duración del período post-antesis, sin cambios en la duración del período emergencia-floración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abeles, F. B., Dunn, L. J., Morgens, P., Callahan, A., Dinterman, R. E., & Schmidt, J. (1988). Induction of 33-kD and 60-kD peroxidases during ethylene-induced senescence of cucumber cotyledons. *Plant physiology*, *87*(3), pp. 609-615. doi.org/10.1104/pp.87.3.609

Aderibigbe, O. R., Ezekiel, O. O., Owolade, S. O., Korese, J. K., Sturm, B., & Hensel, O. (2020). Exploring the potentials of underutilized grain amaranth (*Amaranthus* spp.) along the value chain for food and nutrition security: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 1-14. doi.org/10.1080/10408398.2020.1825323

Aharoni, N., & Richmond, A. E. (1978). Endogenous gibberellin and abscisic acid content as related to senescence of detached lettuce leaves. *Plant Physiology*, *62*(2), pp. 224-228. doi.org/10.1104/pp.62.2.224

Ahmad, M. (2016). Photocycle and signaling mechanisms of plant cryptochromes. *Current Opinion in Plant Biology*, *33*, pp. 108-115. doi.org/10.1016/j.pbi.2016.06.013

Alabadí, D., Oyama, T., Yanovsky, M. J., Harmon, F. G., Más, P., & Kay, S. A. (2001). Reciprocal regulation between TOC1 and LHY/CCA1 within the Arabidopsis circadian clock. *Science*, *293*(5531), pp. 880-883. DOI: 10.1126/science.1061320

Alandia, G., Rodriguez, J. P., Jacobsen, S. E., Bazile, D., & Condori, B. (2020). Global expansion of quinoa and challenges for the Andean region. *Global Food Security*, *26*, 100429. doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100429

Albanese, P., Tamara, S., Saracco, G., Scheltema, R. A., & Pagliano, C. (2020). How paired PSII-LHCII supercomplexes mediate the stacking of plant thylakoid membranes unveiled by structural mass-spectrometry. *Nature Communications*, *11*(1), 1361. doi.org/10.1038/s41467-020-15184-1

Ali, S., Hayat, K., Iqbal, A., & Xie, L. (2020). Implications of abscisic acid in the drought stress tolerance of plants. *Agronomy*, *10*(9), 1323. doi.org/10.3390/agronomy10091323

Referencias bibliográficas

Allison, J. C. S., & Daynard, T. B. (1976). Effect of photoperiod on development and number of spikelets of a temperate and some low-latitude wheats. *Annals of Applied Biology*, 83(1), pp. 93-102. doi.org/10.1111/j.1744-7348.1976.tb01698.x

Alqudah, A. M., Sharma, R., Pasam, R. K., Graner, A., Kilian, B., & Schnurbusch, T. (2014). Genetic dissection of photoperiod response based on GWAS of pre-anthesis phase duration in spring barley. *PLoS One*, 9(11), e113120. doi.org/10.1371/journal.pone.0113120

Alqudah, A. M., Koppolu, R., Wolde, G. M., Graner, A., & Schnurbusch, T. (2016). The genetic architecture of barley plant stature. *Frontiers in genetics*, 7, 117. doi.org/10.3389/fgene.2016.00117

Alvarez Prado, S. A., Gallardo, J. M., Kruk, B. C., & Miralles, D. J. (2017). Strategies for yield determination of bread wheat and two-row barley growing under different environments: A comparative study. *Field Crops Research*, 203, pp. 94-105. doi.org/10.1016/j.fcr.2016.12.013

Alzueta, I., Arisnabarreta, S., Abeledo, L. G., & Miralles, D. J. (2014). A simple model to predict phenology in malting barley based on cultivar thermo-photoperiodic response. *Computers and electronics in agriculture*, 107, pp.8-19. doi.org/10.1016/j.compag.2014.05.011

Anderson, A. J., Meyer, D. R., & Mayer, F. K. (1979). Effects of the environment on the symptom pattern of nickel toxicity in the oat plant. *Annals of Botany*, 43(3), pp. 271-283. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085636

Andrade, F. H. (1995). Analysis of growth and yield of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina. *Field Crops Research*, 41(1), pp. 1-12. doi.org/10.1016/0378-4290(94)00107-N

Angus, J. F., Mackenzie, D. H., Myers, R. J. K., & Foale, M. A. (1981). Phasic development in field crops III. The pseudocereals, buckwheat and grain amaranth. *Field Crops Research*, 5, pp. 305-318. 10.1016/0378-4290(82)90033-8

Angus, J. F., Mackenzie, D. H., Myers, R. J. K., & Foale, M. A. (1982). Phasic development in field crops III. The pseudocereals, buckwheat and grain amaranth. *Field Crops Research*, 5, pp. 305-318. doi.org/10.1016/0378-4290(82)90033-8

Aranjuelo, I., Cabrera-Bosquet, L., Morcuende, R., Avice, J. C., Nogués, S., Araus, J. L., Martínez-Carrasco, R., & Pérez, P. (2011). Does ear C sink strength contribute to overcoming photosynthetic acclimation of wheat plants exposed to elevated CO₂. *Journal of Experimental Botany*, 62(11), pp. 3957-3969. doi.org/10.1093/jxb/err095

Aranjuelo, I., Cabrera-Bosquet, L., Araus, J. L., & Nogués, S. (2012). Carbon and nitrogen partitioning during the post-anthesis period is conditioned by N fertilisation and sink strength in three cereals. *Plant Biology*, 15(1), pp. 135-143. doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00593.x

Arenas-Corraliza, M. G., Rolo, V., López-Díaz, M. L., & Moreno, G. (2019). Wheat and barley can increase grain yield in shade through acclimation of physiological and morphological traits in Mediterranean conditions. *Scientific reports*, 9(1), 9547. doi.org/10.1038/s41598-019-46027-9

Arisnabarreta, S., & Miralles, D. J. (2008a). Critical period for grain number establishment of near isogenic lines of two- and six-rowed barley. *Field Crops Research*, 107(3), pp. 196-202. doi.org/10.1016/j.fcr.2008.02.009

Arisnabarreta, S., & Miralles, D. J. (2008b). Radiation effects on potential number of grains per spike and biomass partitioning in two- and six-rowed near isogenic barley lines. *Field Crops Research*, 107(3), pp. 203-210. doi.org/10.1016/j.fcr.2008.01.005

Asamadu, H., Summerfield, R.J., Ellis, R.H., & Qi, A. (1998). Variation in the durations of the photoperiod-sensitive and photoperiod-insensitive phases of post-first flowering development in Maturity Isolines of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) 'Clark'. *Annals of Botany*, 82, pp. 773-778. doi.org/10.1006/anbo.1998.0756

Aspinall, D. (1961). The control of tillering in the barley plant 1. The pattern of tillering and its relation to nutrient supply. *Australian Journal of Biological Sciences*, 14(4), pp. 493-505. doi.org/10.1071/BI9610493

Referencias bibliográficas

Aspinall, D., & Paleg, L. G. (1964). Effects of day length and light intensity on growth of barley. *Australian Journal of Biological Sciences*, 17(4), 807-822. doi.org/10.1071/BI9640807

Aspinall, D. (1966). Effects of day length and light intensity on growth of barley IV. Genetically controlled variation in response to photoperiod. *Australian Journal of Biological Sciences*, 19(4), pp. 517-534. doi.org/10.1071/BI9660517

Assuero, S. G., & Tognetti, J. A. (2010). Tillering regulation by endogenous and environmental factors and its agricultural management. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, 4(1), pp. 35-48.

Assuero, S. G., Lorenzo, M., Pérez Ramírez, N. M., Velázquez, L. M., & Tognetti, J. A. (2012). Tillering promotion by paclobutrazol in wheat and its relationship with plant carbohydrate status. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 55(4), pp. 347-358. doi.org/10.1080/00288233.2012.706223

Aufhammer, W., Kaul, H. P., Herz, P., Nalborczyk, E., Dalbiak, A., & Gontarczyk, M. (1995). Grain yield formation and nitrogen uptake of amaranth. *European journal of agronomy*, 4(3), pp. 379-386. doi.org/10.1016/S1161-0301(14)80039-7

Avila-Ospina, L., Moison, M., Yoshimoto, K., & Masclaux-Daubresse, C. (2014). Autophagy, plant senescence, and nutrient recycling. *Journal of Experimental Botany*, 65(14), pp. 3799-3811.

Badenoch-Jones, J., Parker, C. W., Letham, D. S., & Singh, S. (1996). Effect of cytokinins supplied via the xylem at multiples of endogenous concentrations on transpiration and senescence in derooted seedlings of oat and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 19(5), pp. 504-516. doi.org/10.1111/j.1365-3040.1996.tb00384.x

Baillot, N., Girusse, C., Allard, V., Piquet-Pissaloux, A., & Le Gouis, J. (2018). Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. *PLoS One*, 13(12), e0209597. doi.org/10.1371/journal.pone.0209597

Balibrea Lara, M. E., Gonzalez Garcia, M. C., Fatima, T., Ehneß, R., Lee, T. K., Proels, R., Tanner, W., & Roitsch, T. (2004). Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence. *The Plant Cell*, 16(5), pp. 1276-1287. doi.org/10.1105/tpc.018929

Baron, V. S., St Remy, E. D., Salmon, D. F., & Dick, A. C. (1996). Adaptation of winter cereal species to shade and competition in a winter/spring cereal forage mixture. *Canadian journal of plant science*, 76(2), pp. 251-257. doi.org/10.4141/cjps96-045

Bascuñán-Godoy, L., Sanhueza, C., Hernández, C. E., Cifuentes, L., Pinto, K., Álvarez, R., Gonzalez-Teuber, M., & Bravo, L. A. (2018a). Nitrogen supply affects photosynthesis and photoprotective attributes during drought-induced senescence in quinoa. *Frontiers in plant science*, 9, 994. doi.org/10.3389/fpls.2018.00994

Bascuñán-Godoy, L., Sanhueza, C., Pinto, K., Cifuentes, L., Reguera, M., Briones, Zurita-Silva, A., Alvarez, R., Morales, A., & Silva, H. (2018b). Nitrogen physiology of contrasting genotypes of *Chenopodium quinoa* Willd. (Amaranthaceae). *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1-12. doi.org/10.1038/s41598-018-34656-5

Bates D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, E. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), pp. 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.

Bawa, G., Chen, G., Shi, J., Ping, C., Feng, L., Pu, T., Yang, H., Chen, H., Kai, S., Hu, Y., Lian, B., Bin, C., Xiao, T., Rehman memon, S., U., Yang, F., Yong, T., Liu, J., Liu, W., Wang, X., & Yang, W. (2021). Further insights into how low-light signaling delays leaf senescence in soybean under high-temperature. *Environmental and Experimental Botany*, 188, 104516. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104516

Bazile, D., Jacobsen, S. E., & Verniau, A. (2016). The global expansion of quinoa: trends and limits. *Frontiers in plant science*, 7, 622. doi:10.3389/fpls.2016.00622

Beadle, C.L. (1985) Plant Growth Analysis. En Coombs, J., Hall, D.O., Long, S.P. and Scurlock, J.M.O., (Eds) *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis* (2ed) Reino Unido, pp. 20-25. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-031999-5.50012-1

Referencias bibliográficas

Beales, J., Turner, A., Griffiths, S., Snape, J. W., & Laurie, D. A. (2007). A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive Ppd-D1a mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 115, pp. 721-733. doi.org/10.1007/s00122-007-0603-4

Beffa, R., Martin, H. V., & Pilet, P. E. (1990). In vitro oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin-oxidases and peroxidases from maize roots. *Plant Physiology*, 94(2), pp. 485-491. doi.org/10.1104/pp.94.2.485

Bekman, E. P., Saibo, N. J., Di Cataldo, A., Regalado, A. P., Ricardo, C. P., & Rodrigues-Pousada, C. (2000). Differential expression of four genes encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Lupinus albus* during germination, and in response to indole-3-acetic acid and wounding. *Planta*, 211(5), pp. 663-672. doi.org/10.1007/s004250000328

Bendevis, M. A., Sun, Y., Shabala, S., Rosenqvist, E., Liu, F., & Jacobsen, S. E. (2014a). Differentiation of photoperiod-induced ABA and soluble sugar responses of two quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivars. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(3), pp. 562-570. doi.org/10.1007/s00344-013-9406-9

Bendevis, M. A., Sun, Y., Rosenqvist, E., Shabala, S., Liu, F., & Jacobsen, S. E. (2014b). Photoperiodic effects on short-pulse ¹⁴C assimilation and overall carbon and nitrogen allocation patterns in contrasting quinoa cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 104, pp. 9-15. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.03.002

Bertero, H. D., King, R. W., & Hall, A. J. (1999a). Photoperiod-sensitive development phases in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Research*, 60(3), pp. 231-243. doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00128-2

Bertero, H. D., King, R. W., & Hall, A. J. (1999b). Modelling photoperiod and temperature responses of flowering in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field crops research*, 63(1), pp. 19-34. doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00024-6

Bertero, H. D., King, R. W., & Hall, A. J. (2000). Photoperiod and temperature effects on the rate of leaf appearance in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Functional Plant Biology*, 27(4), pp. 349-356. doi.org/10.1071/PP99134

Bertero, H. D., De la Vega, A. J., Correa, G., Jacobsen, & S. E., & Mujica, A. (2004). Genotype and genotype-by-environment interaction effects for grain yield and grain size of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as revealed by pattern analysis of international multi-environment trials. *Field crops research*, 89(2-3), pp. 299-318. doi.org/10.1016/j.fcr.2004.02.006

Bertero, H. D., & Ruiz, R. A. (2008). Determination of seed number in sea level quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivars. *European Journal of Agronomy*, 28(3), pp. 186-194. doi.org/10.1016/j.eja.2007.07.002

Binenbaum, J., Weinstain, R., & Shani, E. (2018). Gibberellin localization and transport in plants. *Trends in plant science*, 23(5), pp. 410-421. doi.org/10.1016/j.tplants.2018.02.005

Biswas, A. K., & Choudhuri, M. A. (1980). Mechanism of monocarpic senescence in rice. *Plant Physiology*, 65(2), pp. 340-345. doi.org/10.1104/pp.65.2.340

Biswas, A. K., & Mandal, S. K. (1986). Monocarpic senescence in wheat: influence of sterile glumes and ear. *Physiologia Plantarum*, 67(3), pp. 431-434. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb05758.x

Biswas, A. K., & Mandal, S. K. (1988). Grain filling in relation to monocarpic senescence of wheat in varying source-sink ratios. *Biologia plantarum*, 30(1), pp. 42-47. doi.org/10.1007/BF02876422

Blacklow, W. M., & Incoll, L. D. (1981). Nitrogen stress of winter wheat changed the determinants of yield and the distribution of nitrogen and total dry matter during grain filling. *Functional Plant Biology*, 8(2), pp. 191-200. doi.org/10.1071/PP9810191

Blankenship, R. E. (2015). Photosynthesis: Reactions luminous. En Taiz, L., Zeigel, E., Moller, I.M. & Murphy, A. (Eds.), *Plant physiology and development* (6 ed.) Oxford University Press, Reino Unido, pp. 171-202.

Referencias bibliográficas

Bleken, M. A., & Skjelvåg, A. O. (1986). The phenological development of oat (*Avena sativa* L.) cultivars as affected by temperature and photoperiod. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 36(4), pp. 353-365. doi.org/10.1080/00015128609439894

Bloom, A., J., & Smith, S. (2015) Mineral Nutrition En Taiz, L., Zeigel, E., Moller, I.M. & Murphy, A. (Eds.), *Plant physiology and development* (6 ed.) Oxford University Press, Reino Unido, pp. 119-142.

Blum, A. (1985). Photosynthesis and transpiration in leaves and ears of wheat and barley varieties. *Journal of experimental botany*, 36(3), pp. 432-440. doi.org/10.1093/jxb/36.3.432

Board, J. E., Wier, A. T., & Boethel, D. J. (1997). Critical light interception during seed filling for insecticide application and optimum soybean grain yield. *Agronomy Journal*, 89(3), pp. 369-374. doi.org/10.2134/agronj1997.00021962008900030001x

Bogard, M., Jourdan, M., Allard, V., Martre, P., Perretant, M. R., Ravel, C., Heumez, E., Orford, S., Snape, J., Griffiths, S., Gaju, O., Foulkes, J., & Le Gouis, J. (2011). Anthesis date mainly explained correlations between post-anthesis leaf senescence, grain yield, and grain protein concentration in a winter wheat population segregating for flowering time QTLs. *Journal of experimental botany*, 62(10), pp. 3621-3636. doi.org/10.1093/jxb/err061

Böhlenius, H., Huang, T., Charbonnel-Campaa, L., Brunner, A. M., Jansson, S., Strauss, S. H., & Nilsson, O. (2006). CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees. *Science*, 312(5776), pp. 1040-1043. DOI: 10.1126/science.1126038

Bonner, J., & Thurlow, J. (1949). Inhibition of photoperiodic induction in *Xanthium* by applied auxin. *Botanical Gazette*, 110(4), pp. 613-624. doi.org/10.1086/335562

Bonnett, G. D., & Incoll, L. D. (1992). The potential pre-anthesis and post-anthesis contributions of stem internodes to grain yield in crops of winter barley. *Annals of Botany*, 69(3), pp. 219-225. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088333

Boote, K.J., Jones, J.W., Hoogenboom, G., & Pickering, N.B. (1998). The CROPGRO model for grain legumes. En Tsuji G.Y., Hoogenboom G., Thornton P.K. (Eds.) *Understanding Options for Agricultural Production. Systems Approaches for Sustainable Agricultural Development*. Springer, Paises bajos, pp. 99-128. doi.org/10.1007/978-94-017-3624-4_6

Bort, J., febrero, A., Amaro, T., & Araus, J. L. (1994). Role of awns in ear water use efficiency and grain weight in barley. *Agronomie*, 14(2), pp. 133-139. doi.org/10.1051/agro:19940209

Borrás, L., Maddonni, G. A., & Otegui, M. E. (2003). Leaf senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects. *Field Crops Research*, 82(1), pp. 13-26. doi.org/10.2135/cropsci2008.08.0475

Borthwick, H. A., & Parker, M. W. (1938). Influence of photoperiods upon the differentiation of meristems and the blossoming of Biloxi soy beans. *Botanical Gazette*, 99(4), pp. 825-839. doi.org/10.1086/334749

Brinton, J., & Uauy, C. (2019). A reductionist approach to dissecting grain weight and yield in wheat. *Journal of Integrative Plant Biology*, 61(3), pp. 337-358. doi.org/10.1111/jipb.12741

Brocklehurst, P. A., & Evers, A. D. (1977). The size distribution of starch granules in endosperm of different sized kernels of the wheat cultivar Maris Huntsman. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(12), pp. 1084-1089. doi.org/10.1002/jsfa.2740281209

Buet, A., Costa, M. L., Martínez, D. E., & Guiamet, J. J. (2019). Chloroplast protein degradation in senescing leaves: Proteases and lytic compartments. *Frontiers in Plant Science*, 10, 747. doi.org/10.3389/fpls.2019.00747

Bünning, E. (1960). Circadian rhythms and the time measurement in photoperiodism. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 25, pp. 249-256. doi:10.1101/SQB.1960.025.01.026

Bushnell, W. R. (1966). Delay of senescence in wheat leaves by cytokinins, nickel, and other substances. *Canadian Journal of Botany*, 44(11), pp.1485-1493. doi.org/10.1139/b66-163

Referencias bibliográficas

Caffaro, S. V., Martignone, R. A., Torres, R., & Nakayama, F. (1988). Photoperiod regulation of vegetative growth and meristem behavior toward flower initiation of an indeterminate soybean. *Botanical Gazette*, 149(3), pp. 311-316. doi.org/10.1086/337720

Caffaro, S. V., & Nakayama, F. (1988). Vegetative activity of the main stem terminal bud under photoperiod and flower removal treatments in soybean. *Australian Journal Plant Physiology*.15(3), pp. 475-480. doi.org/10.1071/PP9880475

Calderini, D. F., Abeledo, L. G., Savin, R., & Slafer, G. A. (1999). Effect of temperature and carpel size during pre-anthesis on potential grain weight in wheat. *The Journal of Agricultural Science*, 132(4), pp. 453-459. doi.org/10.1017/S0021859699006504

Calderini, D. F., & Reynolds, M. P. (2000). Changes in grain weight as a consequence of de-graining treatments at pre-and post-anthesis in synthetic hexaploid lines of wheat (*Triticum durum* x *T. tauschii*). *Functional Plant Biology*, 27(3), pp. 183-191. doi.org/10.1071/PP99066

Calderini, D. F., & Ortiz-Monasterio, I. (2003). Grain position affects grain macronutrient and micronutrient concentrations in wheat. *Crop Science*, 43(1), pp. 141-151. doi.org/10.2135/cropsci2003.1410

Casao, M. C., Karsai, I., Igartua, E., Gracia, M. P., Veisz, O., & Casas, A. M. (2011). Adaptation of barley to mild winters: a role for PPDH2. *BMC Plant Biology*, 11(1), pp. 1-13. doi.org/10.1186/1471-2229-11-164

Castro, P., Puertolas, J., & Dodd, I. C. (2019). Stem girdling uncouples soybean stomatal conductance from leaf water potential by enhancing leaf xylem ABA concentration. *Environmental and Experimental Botany*, 159, pp. 149-156. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.12.020

Chafai A., Simmons, S. R., & Crookston, R. K. (1992). Allocation of photoassimilate by main shoots and nonsurviving tillers in barley. *Crop Science*, 32(5), pp. 1233-1237. doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200050034x

Chen, M., Maodzeka, A., Zhou, L., Ali, E., Wang, Z., & Jiang, L. (2014). Removal of DELLA repression promotes leaf senescence in Arabidopsis. *Plant Science*, 219, pp.26-34. doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.11.016

Chen, L., Xiang, S., Chen, Y., Li, D., & Yu, D. (2017). Arabidopsis WRKY45 interacts with the DELLA protein RGL1 to positively regulate age-triggered leaf senescence. *Molecular plant*, 10(9), pp. 1174-1189. doi.org/10.1016/j.molp.2017.07.008

Chen, Q., Payyavula, R. S., Chen, L., Zhang, J., Zhang, C., & Turgeon, R. (2018). FLOWERING LOCUS T mRNA is synthesized in specialized companion cells in Arabidopsis and Maryland Mammoth tobacco leaf veins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(11), pp. 2830-2835. doi.org/10.1073/pnas.1719455115

Chen, J. G., Cheng, S. H., Cao, W., & Zhou, X. (1998). Involvement of endogenous plant hormones in the effect of mixed nitrogen source on growth and tillering of wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 21(1), 87-97. doi.org/10.1080/01904169809365385

Cheng, Y., Dai, X., & Zhao, Y. (2007). Auxin synthesized by the YUCCA flavin monooxygenases is essential for embryogenesis and leaf formation in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 19(8), pp. 2430-2439. doi.org/10.1105/tpc.107.053009

Chmielewski, F. M., & Köhn, W. (2000). Impact of weather on yield components of winter rye over 30 years. *Agricultural and Forest Meteorology*, 102(4), pp.253-261. doi.org/10.1016/S0168-1923(00)00125-8

Chouard, P. (1960). Vernalization and its relations to dormancy. *Annual Review of Plant Physiology*, 11(1), pp. 191-238. doi.org/10.1146/annurev.pp.

Christensen, L. E., Below, F. E., & Hageman, R. H. (1981). The effects of ear removal on senescence and metabolism of maize. *Plant physiology*, 68(5), pp. 1180-1185. doi.org/10.1104/pp.68.5.1180

Referencias bibliográficas

Christiansen, J. L., Jacobsen, S. E., & Jørgensen, S. T. (2010). Photoperiodic effect on flowering and seed development in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, 60(6), pp. 539-544. doi.org/10.1080/09064710903295184

Cliquet, J. B., Deleens, E., & Mariotti, A. (1990). C and N mobilization from stalk and leaves during kernel filling by ¹³C and ¹⁵N tracing in *Zea mays* L. *Plant Physiology*, 94(4), pp. 1547-1553. doi.org/10.1104/pp.94.4.1547

Coffman, F. A., & Frey, K. J. (1961). Influence of climate and physiologic factors on growth in oats. *Oats and oat improvement*, pp. 420-464. doi.org/10.2134/agronmonogr8.c12

Collino, D.J., Salvagiotti, F., Peticari, A., Piccinetti C., Ovando, G., Urquiaga, S., & Racca, R.W. (2015). Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil and meteorological factors. *Plant Soil*. 392, pp. 239-252. https://doi.org/10.1007/s11104-015-2459-8

Colville, D. C., & Frey, K. J. (1986). Development rate and growth duration of oats in response to delayed sowing. *Agronomy journal*, 78(3), pp.417-421. doi.org/10.2134/agronj1986.00021962007800030003x

Crafts-Brandner, S. J., & Egli, D. B. (1987a). Sink removal and leaf senescence in soybean: cultivar effects. *Plant Physiology*, 85(3), pp. 662-666. doi.org/10.1104/pp.85.3.662

Crafts-Brandner, S. J., Egli, D. B. (1987b). Modification of seed growth in soybean by physical restraint: effect on leaf senescence. *Journal of experimental botany*, 38(12), pp. 2043-2049. doi.org/10.1093/jxb/38.12.2043

Crafts-Brandner, S. J., Below, F. E., Harper, J. E., & Hageman, R. H. (1984a). Differential senescence of maize hybrids following ear removal: I. Whole plant. *Plant physiology*, 74(2), pp. 360-367. doi.org/10.1104/pp.74.2.360

Crafts-Brandner, S. J., Below, F. E., Wittenbach, V. A., Harper, J. E., & Hageman, R. H. (1984b). Differential senescence of maize hybrids following ear removal: II. Selected leaf. *Plant physiology*, 74(2), pp. 368-373. doi.org/10.1104/pp.74.2.368

Crafts-Brandner, S. J., Below, F. E., Harper, J. E., & Hageman, R. H. (1984c). Effects of pod removal on metabolism and senescence of nodulating and nonnodulating soybean isolines: I. Metabolic constituents. *Plant Physiology*, 75(2), pp. 311-317. doi.org/10.1104/pp.75.2.311

Cregan, P. B., & Hartwig, E. E. (1984). Characterization of Flowering Response to Photoperiod in Diverse Soybean Genotypes. *Crop Science*, 24(4), pp. 659-662. doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400040008x

Creux, N., & Harmer, S. (2019). Circadian rhythms in plants. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 11(9), a034611. doi: 10.1101/cshperspect. a034611

Criswell, J.G., & Hume, D.J., (1972). Variation in sensitivity to photoperiod among early maturing soybean strains. *Crop Science*. 12, pp. 657-660. https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200050031x

Cure, J. D., Patterson, R. P., Raper Jr, C. D., & Jackson, W. A. (1982). Assimilate distribution in soybeans as affected by photoperiod during seed development. *Crop Science*, 22(6), pp. 1245-1250. doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200060039x

Curti, R. N., De la Vega, A. J., Andrade, A. J., Bramardi, S. J., & Bertero, H. D. (2014). Multi-environmental evaluation for grain yield and its physiological determinants of quinoa genotypes across Northwest Argentina. *Field Crops Research*, 166, pp. 46-57. doi.org/10.1016/j.fcr.2014.06.011

Dardanelli, J. L., Balzarini, M., Martínez, M. J., Cuniberti, M., Resnik, S., Ramunda, S. F., Herrero, R. & Baigorri, H. (2006). Soybean maturity groups, environments, and their interaction define mega environments for seed composition in Argentina. *Crop Science*, 46(5), pp. 1939-1947. doi.org/10.2135/cropsci2005.12-0480

Davies, P. J., & Gan, S. (2012). Towards an integrated view of monocarpic plant senescence. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59, pp. 467-478. doi.org/10.1134/S102144371204005X

Referencias bibliográficas

Davidson, D. J., & Chevalier, P. M. (1990). Preanthesis tiller mortality in spring wheat. *Crop Science*, 30(4), pp. 832-836. doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000040013x

Deckmyn, G., & Impens, I. (1997). The ratio UV-B/photosynthetically active radiation (PAR) determines the sensitivity of rye to increased UV-B radiation. *Environmental and Experimental Botany*, 37(1), pp. 3-12. doi.org/10.1016/S0098-8472(96)01044-1

De Troiani, R. M., Sánchez, T. M., Reinaudi, N. B., & De Ferramola, L. A. (2004). Optimal sowing dates of three species of grain-bearing amaranth in the semi-arid Argentine Pampa. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(3), pp. 385-391. doi.org/10.5424/sjar/2004023-93

Di Ciocco, C., Coviella, C., Penón, E. A., Diaz-Zorita, M., & Lopez-Puente, S (2008). Biological fixation of nitrogen and N balance in soybean crops in the pampas region. *Spanish Journal Agriculture Research*, 6 (1), pp. 114-119. DOI: 10.5424/sjar/2008061-5259

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. InfoStat versión (2020). Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en <http://www.infostat.com.ar> [último acceso 6/5/2023]

Djanaguiraman, M., & Prasad, P. V. (2010). Ethylene production under high temperature stress causes premature leaf senescence in soybean. *Functional Plant Biology*, 37(11), pp. 1071-1084. doi.org/10.1071/FP10089

Djanaguiraman, M., Prasad, P. V. V., & Al-Khatib, K. (2011). Ethylene perception inhibitor 1-MCP decreases oxidative damage of leaves through enhanced antioxidant defense mechanisms in soybean plants grown under high temperature stress. *Environmental and experimental botany*, 71(2), pp. 215-223. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.12.006

Distelfeld, A., Avni, R., & Fischer, A. M. (2014). Senescence, nutrient remobilization, and yield in wheat and barley. *Journal of experimental botany*, 65(14), pp. 3783-3798. doi.org/10.1093/jxb/ert477

Dobrev, P. I., & Kamínek, M. (2002). Fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid and their purification using mixed-mode solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 950(1-2), pp. 21-29. doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00024-9

Domínguez, F., & Cejudo, F. J. (2021). Chloroplast dismantling in leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, 72(16), pp. 5905-5918. doi.org/10.1093/jxb/erab200

Donald, C. M., & Hamblin, J. (1976). The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. En Brady N.C.(Ed.). *Advances in Agronomy Vol. 28*, Academic Press, Estados Unidos, pp 361-405. doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60559-3

Dou, H., & Niu, G. (2020). Plant responses to light. En Kozai, T., Niu, G., & Takagakai, M.(eds.) *Plant Factory*. Academic Press. Estados Unidos, pp. 153-166. doi.org/10.1016/B978-0-12-816691-8.00009-1

Dreccer, M. F., Grashoff, C., & Rabbinge, R. (1997). Source-sink ratio in barley (*Hordeum vulgare* L.) during grain filling: effects on senescence and grain protein concentration. *Field Crops Research*, 49(2-3), pp. 269-277. doi.org/10.1016/S0378-4290(96)01002-7

Dreccer, M. F., Chapman, S. C., Rattey, A. R., Neal, J., Song, Y., Christopher, J. J. T., & Reynolds, M. (2013). Developmental and growth controls of tillering and water-soluble carbohydrate accumulation in contrasting wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes: can we dissect them? *Journal of Experimental Botany*, 64(1), 143-160. doi.org/10.1093/jxb/ers317

Dybing, C. D., & Lay, C. (1981a). Field Evaluations of Morphactins and Other Growth Regulators for Senescence Delay of Flax, Soybean, Wheat, and Oats. *Crop Science*, 21(6), pp. 879-884. doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100060020x

Dybing, C. D., & Lay, C. (1981b). Yields and yield components of flax, soybean, wheat, and oats treated with morphactins and other growth regulators for senescence delay. *Crop Science*, 21(6), pp. 904-908. doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100060025x

Dybing, C. D., & Yarrow, G. L. (1984). Morphactin effects on soybean leaf anatomy and chlorophyll content. *Journal of Plant Growth Regulation*, 3, pp. 9-21. doi.org/10.1007/BF02041988

Referencias bibliográficas

Dunford, N.T, (2015). Translocation in the phloem. En Taiz, L., Zeigel, E., Moller, I.M. & Murphy, A. (Eds.), *Plant physiology and development* (6 ed.) Oxford University Press, Reino Unido, pp. 285-316

Egli, D. B., Leggett, J. E., & Duncan, W. G. (1978). Influence of N Stress on Leaf Senescence and N Redistribution in Soybeans. *Agronomy Journal*, 70(1), pp. 43-47. doi.org/10.2134/agronj1978.00021962007000010011x

Egli, D. B., Duncan, W. G., & Crafts-Brandner, S. J. (1987). Effect of Physical Restraint on Seed Growth in Soybean. *Crop Science*, 27(2), pp. 289-294. doi.org/10.2135/cropsci1987.0011183X002700020034x

Ehleringer, J., & Sandquist, D.R. (2015). Photosynthesis: Light Reactions. En Taiz, L., Zeigel, E., Moller, I.M. & Murphy, A. (Eds.), *Plant physiology and development* (6 ed.) Oxford University Press, Reino Unido, pp. 171-202

Ellen, J. (1993a). Growth, yield and composition of four winter cereals. I. Biomass, grain yield and yield formation. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 41(2), pp. 153-165. doi.org/10.18174/njas. v41i2.628

Ellen, J. (1993b). Growth, yield and composition of four winter cereals. II. Nitrogen and carbohydrate economy. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 41(3), pp. 235-246. doi.org/10.18174/njas. v41i3.622

Ellis, R. P., & Russell, G. (1984). Plant development and grain yield in spring and winter barley. *The Journal of Agricultural Science*, 102(1), pp. 85-95. doi.org/10.1017/S0021859600041496

Evans, J. R. (1983). Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant physiology*, 72(2), 297-302. doi.org/10.1104/pp.72.2.297

Evans, J. R. (1989). Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia*, 78(1), pp. 9-19. doi.org/10.1007/BF00377192

Evans, L. T., & Rawson, H. M. (1970). Photosynthesis and respiration by the flag leaf and components of the ear during grain development in wheat. *Australian journal of biological sciences*, 23(2), pp. 245-254. doi.org/10.1071/BI9700245

Evans, J. R., & Seemann, J. R. (1984). Differences between wheat genotypes in specific activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and the relationship to photosynthesis. *Plant Physiology*, 74(4), pp. 759-765. doi.org/10.1104/pp.74.4.759

Evans, J. R., & Seemann, J. R. (1989). The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences, and control. *Photosynthesis*, 8, 183-205. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/285010849_The_allocation_Of_protein_nitrogen_in_the_photosynthetic_apparatus_Costs_consequences_and_control [último acceso 6/5/2023].

Evans, J. R., & Clarke, V. C. (2019). The nitrogen cost of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 70(1), pp. 7-15. doi.org/10.1093/jxb/ery366

Evers, J. B., Vos, J. A. N., Andrieu, B., & Struik, P. C. (2006). Cessation of tillering in spring wheat in relation to light interception and red: far-red ratio. *Annals of Botany*, 97(4), pp. 649-658. doi.org/10.1093/aob/mcl020

Evers, J. B., & Vos, J. (2013). Modeling branching in cereals. *Frontiers in Plant Science*, 4, 399. doi.org/10.3389/fpls.2013.00399

Excel versión 2016. Microsoft Office Profesional Plus 2016.

Faiss, M., Zalubilová, J., Strnad, M., & Schmölling, T. (1997). Conditional transgenic expression of the ipt gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants. *The Plant Journal*, 12(2), pp. 401-415. doi.org/10.1046/j.1365-313X.1997.12020401.x

Fangmeier, A., Chrost, B., Högy, P., & Krupinska, K. (2000). CO₂ enrichment enhances flag leaf senescence in barley due to greater grain nitrogen sink capacity. *Environmental and Experimental Botany*, 44(2), pp. 151-164. doi.org/10.1016/S0098-8472(00)00067-8

Referencias bibliográficas

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). World production. FAOSTAT. Disponible en <https://www.fao.org> [Último acceso: 6/5/2023]

Fehr, W.R., & Caviness, C.E. (1977). Stages of soybean development. En *Special Report 87. Iowa State University. Agricultural and Home Economics Experiment Station. Ames, Iowa*, pp. 1-12. Disponible en <https://lib.dr.iastate.edu/specialreports/87> [último acceso 6/5/2023]

Feller, U. (1979). Effect of changed source/sink relations on proteolytic activities and on nitrogen mobilization in field-grown wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Cell Physiology*, 20(8), pp. 1577-1583. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a075960

Feller, U., & Erismann, K. H. (1978). Changes in gas Exchange and in activities of proteolytic enzymes during senescence of wheat leaves (*Triticum aestivum* L.). *Zeitschrift fur pflanzen physiologie*, 90(3), pp. 235-244

Feller, U. K., Soong, T. S. T., & Hageman, R. H. (1977). Leaf proteolytic activities and senescence during grain development of field-grown corn (*Zea mays* L.). *Plant Physiology*, 59(2), pp. 290-294. doi.org/10.1104/pp.59.2.290

Fernández-Calleja, M., Casas, A. M., & Igartua, E. (2021). Major flowering time genes of barley: allelic diversity, effects, and comparison with wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 134, pp. 1867-1897. doi.org/10.1007/s00122-021-03824-z

Ferrante, A., Cartelle, J., Savin, R., & Slafer, G. A. (2017). Yield determination, interplay between major components and yield stability in a traditional and a contemporary wheat across a wide range of environments. *Field Crops Research*, 203, pp. 114-127. doi.org/10.1016/j.fcr.2016.12.028

Fischer, R. A. (1985). Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *The Journal of Agricultural Science*, 105(2), pp. 447-461. doi.org/10.1017/S0021859600056495

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), World Health Organization (WHO) & United Nations University (UNU). (2001). Human Energy Requirements. Food and

nutritions Technical Report Serie (Vol. 1). Disponible en <https://www.fao.org> [último acceso 6/5/2023]

Fowler, D. B. (1983). Influence of date of seeding on yield and other agronomic characters of winter wheat and rye grown in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Science*, 63(1), pp. 109-113. doi.org/10.4141/cjps83-010

Frank, S., Hollmann, J., Mulisch, M., Matros, A., Carrión, C. C., Mock, H. PHensel, G., & Krupinska, K. (2019). Barley cysteine protease PAP14 plays a role in degradation of chloroplast proteins. *Journal of Experimental Botany*, 70(21), pp. 6057-6069. doi.org/10.1093/jxb/erz356

Friend, D. J. C. (1965). Tillering and leaf production in wheat as affected by temperature and light intensity. *Canadian Journal of Botany*, 43(9), pp. 1063-1076. doi.org/10.1139/b65-123

Fuller, H. J. (1949). Photoperiodic responses of *Chenopodium quinoa* Willd. and *Amaranthus caudatus* L. *American Journal of Botany*, pp. 175-180. doi.org/10.2307/2437786

Gaju, O., Allard, V., Martre, P., Le Gouis, J., Moreau, D., Bogard, M., Hubbart, S. & Foulkes, M. J. (2014). Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars. *Field Crops Research*, pp. 155, 213-223. doi.org/10.1016/j.fcr.2013.09.003

Galwey, N. W. (1992). The potential of quinoa as a multi-purpose crop for agricultural diversification: a review. *Industrial crops and products*, 1(2-4), pp. 101-106. doi.org/10.1016/0926-6690(92)90006-H

Gan, S. (2018). Concepts and types of senescence in plants. *Plant senescence: methods and protocols*, pp.3-8. DOI: 10.1007/978-1-4939-7672-0_1

Gan, S., & Amasino, R. M. (1995). Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science*, 270(5244), pp. 1986-1988.10.1126/science.270.5244.1986

Gan, S., & Amasino, R. M. (1996). Cytokinins in plant senescence: from spray and pray to clone and play. *Bioessays*, 18(7), pp. 557-565. doi.org/10.1002/bies.950180707

Referencias bibliográficas

Garner, W. W., & Allard, H. A. (1920). Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *Journal of Agricultural Research*, 18, pp. 553-606. Disponible en https://handle.nal.usda.gov/10113/IND43966_282 [último acceso 6/5/2023]

Garner, W. W., & Allard, H. A. (1923). Further studies in photoperiodism: the response of the plant to relative length of day and night. *Journal of agricultural research*, 23 (11), pp 871-920. Disponible en <https://naldc.nal.usda.gov/download/IND43966624/PDF> [Último acceso 6/5/2023]

Garrison, F. R., Brinker, A. M., & Nooden, L. D. (1984). Relative activities of xylem-supplied cytokinins in retarding soybean leaf senescence and sustaining pod development. *Plant and cell physiology*, 25(2), pp. 213-224. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076704

Gebbing, T., Schnyder, H., & Kühbauch, W. (1998). Carbon mobilization in shoot parts and roots of wheat during grain filling: Assessment by $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ steady-state labelling, growth analysis and balance sheets of reserves. *Plant, Cell & Environment*, 21(3), pp. 301-313. doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00286.x

Geissler, N., Hussin, S., El-Far, M. M., & Koyro, H. W. (2015). Elevated atmospheric CO_2 concentration leads to different salt resistance mechanisms in a C_3 (*Chenopodium quinoa*) and a C_4 (*Atriplex nummularia*) halophyte. *Environmental and Experimental Botany*, 118, pp. 67-77. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.003

Gélinas, B., & Seguin, P. (2008). Evaluation of management practices for grain amaranth production in Eastern Canada. *Agronomy journal*, 100(2), pp. 344-351. doi.org/10.2134/agronj2007.0189

Gepstein, S., & Thimann, K. V. (1980). Changes in the abscisic acid content of oat leaves during senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(4), pp. 2050-2053. doi.org/10.1073/pnas.77.4.2050

Gerbaud, A., & André, M. (1980). Effect of CO₂, O₂, and light on photosynthesis and photorespiration in wheat. *Plant Physiology*, 66(6), pp. 1032-1036. doi.org/10.1104/pp.66.6.1032

Ghorbel, M., Brini, F., Sharma, A., & Landi, M. (2021). Role of jasmonic acid in plants: the molecular point of view. *Plant Cell Reports*, 40, pp. 1471-1494. doi.org/10.1007/s00299-021-02687-4

Gienapp, P., Teplitsky, C., Alho, J. S., Mills, J. A., & Merilä, J. (2008). Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses. *Molecular ecology*, 17(1), pp. 167-178. doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03413.x

Goldthwaite, J. J., & Laetsch, W. M. (1968). Control of senescence in Rumex leaf discs by gibberellic acid. *Plant physiology*, 43(11), pp. 1855-1858. doi.org/10.1104/pp.43.11.1855

Gómez, M. B., Curti, R. N., & Bertero, H. D. (2021). Seed weight determination in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Agronomy and Crop Science*. pp 243-254. doi.org/10.1111/jac.12532

Gong, Y. H., Zhang, J., Gao, J. F., Lu, J. Y., & Wang, J. R. (2005). Slow export of photoassimilate from stay-green leaves during late grain-filling stage in hybrid winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191(4), pp. 292-299. doi.org/10.1111/j.1439-037X.2005.00173.x

Gonzalez, F. G., Slafer, G. A., & Miralles, D. J. (2003a). Grain and floret number in response to photoperiod during stem elongation in fully and slightly vernalized wheats. *Field Crops Research*, 81(1), pp. 17-27. doi.org/10.1016/S0378-4290(02)00195-8

Gonzalez, F. G., Slafer, G. A., & Miralles, D. J. (2003b). Floret development and spike growth as affected by photoperiod during stem elongation in wheat. *Field Crops Research*, 81(1), pp. 29-38. doi.org/10.1016/S0378-4290(02)00196-X

González, F. G., Slafer, G. A., & Miralles, D. J. (2005a). Photoperiod during stem elongation in wheat: is its impact on fertile floret and grain number determination similar to that of radiation?. *Functional Plant Biology*, 32(3), 181-188. doi.org/10.1071/FP04103

Referencias bibliográficas

González, F. G., Slafer, G. A., & Miralles, D. J. (2005b). Floret development and survival in wheat plants exposed to contrasting photoperiod and radiation environments during stem elongation. *Functional Plant Biology*, 32(3), 189-197. doi.org/10.1071/FP04104

González, J. A., Rosa, M., Parrado, M. F., Hilal, M., & Prado, F. E. (2009). Morphological and physiological responses of two varieties of a highland species (*Chenopodium quinoa* Willd.) growing under near-ambient and strongly reduced solar UV-B in a lowland location. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 96(2), 144-151. doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2009.05.003

González, J. A., Erazzú, L. E., Buedo, S. E., & Prado, F. E. (2018). Efecto de la densidad de siembra sobre la actividad fotosintética en *Chenopodium quinoa* var. CICA (“quínoa”) en el Noroeste Argentino. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 53(1), 21-29. doi:10.31055/1851.2372.v53.n1.19860

González, J. A., Buedo, S. E., & Prado, F.E (2019). La fertirrigación con vinaza de caña de azúcar limita la tasa fotosintética de soja (*Glycine max*, Leguminosae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 54(2), pp. 215-223. DOI.org/10.31055/1851.2372.v54.n2.24366

González, J.A., Jacobsen. S.E, Buedo, S.E., Erazzú, L.E., González, D.A., & Prado, F. E. (2019). Evaluation of Photosynthetic Capacity and Grain Yield of the Sea Level Quinoa Variety Titicaca Grown in a Highland Region of Northwest Argentine. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 9(4): pp. 888-900. 10.36632/mejas/2019.9.4.5

González-Suárez, P., Walker, C. H., & Bennett, T. (2020). Bloom and bust: understanding the nature and regulation of the end of flowering. *Current Opinion in Plant Biology*, 57, pp. 24-30. doi.org/10.1016/j.pbi.2020.05.009

Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., & Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), pp. 886-891. doi.org/10.1002/jsfa.1120

Gosparini, C. O., Busilacchi, H. A., Vernieri, P., & Morandi, E. N. (2007). Endogenous abscisic acid and precocious germination of developing soybean seeds. *Seed Science Research*, 17(3), pp. 165-174. doi:10.1017/S0960258507785872

Gosse, G., Varlet-Grancher, C., Bonhomme, R., Chartier, M., Allirand, J. M., & Lemaire, G. (1986). Production maximale de matière sèche et rayonnement solaire intercepté par un couvert végétal. *Agronomie*, 6(1), pp. 47-56. doi:10.1051/agro:19860103

Gregersen, P. L., Holm, P. B., & Krupinska, K. (2008). Leaf senescence and nutrient remobilisation in barley and wheat. *Plant Biology*, 10, pp. 37-49. doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00114.x

Gregersen, P. L., Culetic, A., Boschian, L., & Krupinska, K. (2013). Plant senescence and crop productivity. *Plant molecular biology*, 82(6), pp. 603-622. doi.org/10.1007/s11103-013-0013-8

Grimm, S. S., Jones, J. W., Boote, K. J., & Hesketh, J. D. (1993). Parameter estimation for predicting flowering date of soybean cultivars. *Crop Science*, 33(1), pp. 137-144. doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300010025x

Grover, A., Mohanty, P. (1993). Leaf Senescence-induced Alterations in Structure and Function of Higher Plant Chloroplasts. En Abrol, Y.P., Mohanty, P., Govindjee (eds) *Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity*. Springer, Paises Bajos. pp. 226-255 https://doi.org/10.1007/978-94-011-2708-0_9

Gu, J., & Marshall, C. (1988). The effect of tiller removal and tiller defoliation on competition between the main shoot and tillers of spring barley. *Annals of Applied Biology*, 112(3), pp. 597-608. doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb02096.x

Guiamet, J.J., & Nakayama, F.(1984a). The effects of long days upon reproductive growth in soybeans (*Glycine max* L. Merr.) cv. Williams. *Japan Journal Crop Science*, 53(1), pp. 35-40. <https://doi.org/10.1626/jcs.53.35>

Referencias bibliográficas

Guiamet, J.J., & Nakayama, F.(1984b). Varietal responses of soybeans (*Glycine max* L. Merr.) to long days during reproductive growth. *Japan Journal Crop Science*, 53(3), pp. 299-306. <https://doi.org/10.1626/jcs.53.299>

Guiamet, J. J., & Giannibelli, M. C. (1994). Inhibition of the degradation of chloroplast membranes during senescence in nuclear 'stay green' mutants of soybean. *Physiologia Plantarum*, 91(3), pp. 395-402. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1994.tb02966.x

Guiamet, J. J., & Giannibelli, M. C. (1996). Nuclear and cytoplasmic "stay-green" mutations of soybean alter the loss of leaf soluble proteins during senescence. *Physiologia Plantarum*, 96(4), pp. 655-661. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00239.x

Guiamet, J.J., Balatti, P.A., Montaldi, E.R. (1986). Nitrogen assimilation and leaf development in indeterminate soybeans as influenced by post-flowering photoperiod. *Journal Experimental Botany* 37(11), pp. 1611-1618. <https://doi.org/10.1093/jxb/37.11.1611>

Guiamet, J. J., Teeri, J. A., & Nooden, L. D. (1990). Effects of nuclear and cytoplasmic genes altering chlorophyll loss on gas exchange during monocarpic senescence in soybean. *Plant and cell physiology*, 31(8), pp. 1123-1130. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078025

Guiamet, J. J., Schwartz, E., Pichersky, E., & Noodén, L. D. (1991). Characterization of cytoplasmic and nuclear mutations affecting chlorophyll and chlorophyll-binding proteins during senescence in soybean. *Plant Physiology*, 96(1), pp. 227-231. doi.org/10.1104/pp.96.1.227

Guiboileau, A., Sormani, R., Meyer, C., & Masclaux-Daubresse, C. (2010). Senescence and death of plant organs: nutrient recycling and developmental regulation. *Comptes rendus biologies*, 333(4), pp. 382-391.

Guitard, A. A. (1960). The influence of variety, temperature, and stage of growth on the response of spring barley to photoperiod. *Canadian Journal of Plant Science*, 40(1), pp. 65-80. doi.org/10.4141/cjps60-008

Gulfishan, M., Jahan, A., Bhat, T. A., & Sahab, D. (2019). Plant senescence and organ abscission. En Sarwat, M., & Narendra, T. (Eds.) *Senescence Signalling and Control in Plants*, Academic Press, India, pp. 255-272 doi.org/10.1016/B978-0-12-813187-9.00016-0

Guo, P., Li, Z., Huang, P., Li, B., Fang, S., Chu, J., & Guo, H. (2017). A tripartite amplification loop involving the transcription factor WRKY75, salicylic acid, and reactive oxygen species accelerates leaf senescence. *The Plant Cell*, 29(11), pp. 2854-2870. doi.org/10.1105/tpc.17.00438

Guo, Y., Ren, G., Zhang, K., Li, Z., Miao, Y., & Guo, H. (2021). Leaf senescence: progression, regulation, and application. *Molecular Horticulture*, 1(1), pp. 1-25. doi.org/10.1186/s43897-021-00006-9

Gupta, R., & Chakrabarty, S. K. (2013). Gibberellic acid in plant: still a mystery unresolved. *Plant signaling & behavior*, 8(9), e25504. doi.org/10.4161/psb.25504

Gutiérrez-Boem, F. H., Scheiner, J. D., Rimski-Korsakov, H., & Lavado, R. S. (2004). Late season nitrogen fertilization of soybeans: effects on leaf senescence, yield and environment. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 68(2), 109-115. doi.org/10.1023/B:FRES.0000019040.02605.ee

Halse, N. J., & Weir, R. N. (1970). Effects of vernalization, photoperiod, and temperature on phenological development and spikelet number of Australian wheats. *Australian Journal of Agricultural Research*, 21(3), pp. 383-393. doi.org/10.1071/AR9700383

Hallmark, H. T., Černý, M., Brzobohatý, B., & Rashotte, A. M. (2020). trans-Zeatin-N-glucosides have biological activity in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 15(5), e0232762. doi.org/10.1371/journal.pone.0232762

Hammes, P. S., & Marshall, R. J. (1980). Effect of photoperiod and temperature on the developmental rate of three cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 3, pp. 121-128. doi.org/10.1016/0378-4290(80)90017-9

Referencias bibliográficas

Han, T., Wu, C., Mentreddy, R. S., Zhao, J., Xu, X., & Gai, J. (2005). Post-flowering photoperiod effects on reproductive development and agronomic traits of long-day and short-day crops. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191(4), pp.255-262. doi.org/10.1111/j.1439-037X.2005.00148.x

Han, T., Wu, C., Tong, Z., Mentreddy, R. S., Tan, K., & Gai, J. (2006). Postflowering photoperiod regulates vegetative growth and reproductive development of soybean. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1-2), pp.120-129. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.006

Hand, D. W., Wilson, J. W., & Acock, B. (1993). Effects of light and CO₂ on net photosynthesis rates of stands of Aubergine and Amaranthus. *Annals of Botany*, 71(3), pp. 209-216. doi.org/10.1006/anbo.1993.1026

Hartman, T. A. (1964). Influence of daylength on vernalization of winter rye. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 12(2), pp. 132-155. doi.org/10.18174/njas. v12i2.17528

Hartman, G.L., West, E.D., & Herman, T.K. (2011). Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*. 3(1), pp. 5-17. doi.org/10.1007/s12571-010-0108-x

Havé, M., Marmagne, A., Chardon, F., & Masclaux-Daubresse, C. (2017). Nitrogen remobilization during leaf senescence: lessons from Arabidopsis to crops. *Journal of Experimental Botany*, 68(10), pp. 2513-2529. doi.org/10.1093/jxb/erw365

Hawkesford, M. J., Araus, J. L., Park, R., Calderini, D., Miralles, D., Shen, T., Zhang, J., & Parry, M. A. (2013). Prospects of doubling global wheat yields. *Food and Energy Security*, 2(1), pp. 34-48. doi.org/10.1002/fes3.15

Hayati, R., Egli, D. B., & Crafts-Brandner, S. J. (1995). Carbon and nitrogen supply during seed filling and leaf senescence in soybean. *Crop science*, 35(4), pp. 1063-1069. doi.org/10.2135/cropsci1995.0011183X003500040024x

He, P., Zhou, W., & Jin, J. (2002). Effect of nitrogen application on redistribution and transformation of photosynthesized ¹⁴C during grain formation in two maize cultivars with

different senescence appearance. *Journal of plant nutrition*, 25(11), pp. 2443-2456. doi.org/10.1081/PLN-120014706

Hedden, P., & Kamiya, Y. (1997). Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation. *Annual review of plant biology*, 48(1), pp. 431-460. doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.431

Henderson, T. L., Johnson, B. L., & Schneiter, A. A. (1998). Grain amaranth seeding dates in the Northern Great Plains. *Agronomy Journal*, 90(3), pp. 339-344. 10.2134/agronj1998.00021962009000030005x

Hensel, L. L., Grbić, V., Baumgarten, D. A., & Bleecker, A. B. (1993). Developmental and age-related processes that influence the longevity and senescence of photosynthetic tissues in arabidopsis. *The Plant Cell*, 5(5), pp. 553-564. doi.org/10.1105/tpc.5.5.553

Herold, A. (1980). Regulation of photosynthesis by sink activity-the missing link. *New phytologist*, 86(2), pp.131-144. doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb03184.x

Hilditch, P., Thomas, H., & Rogers, L. (1986). Leaf senescence in a non-yellowing mutant of *Festuca pratensis*: photosynthesis and photosynthetic electron transport. *Planta*, 167, pp.146-151. doi.org/10.1007/BF00446382

Hipps, L. E., Asrar, G., & Kanemasu, E. T. (1983). Assessing the interception of photosynthetically active radiation in winter wheat. *Agricultural Meteorology*, 28(3), pp. 253-259. doi.org/10.1016/0002-1571(83)90030-4

Ho, I., Below, F. E., & Hageman, R. H. (1987). Effect of head removal on leaf senescence of sunflower. *Plant Physiology*, 83(4), pp. 844-848. doi.org/10.1104/pp.83.4.844

Hodges, T., & French, V. (1985). Soyphen: Soybean Growth Stages Modeled from Temperature, Daylength, and Water Availability. *Agronomy Journal*, 77(3), pp. 500-505. doi.org/10.2134/agronj1985.00021962007700030031x

Referencias bibliográficas

Hörtensteiner, S., & Feller, U. (2002). Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *Journal of experimental botany*, 53(370), pp. 927-937. doi.org/10.1093/jexbot/53.370.927

Hörtensteiner, S. (2009). Stay-green regulates chlorophyll and chlorophyll-binding protein degradation during senescence. *Trends in plant science*, 14(3), pp. 155-162. doi.org/10.1016/j.tplants.2009.01.002

Hoyerová, K., Gaudinová, A., Malbeck, J., Dobrev, P. I., Kocábek, T., Šolcová, B. Travnickola. A., & Kamínek, M. (2006). Efficiency of different methods of extraction and purification of cytokinins. *Phytochemistry*, 67(11), pp. 1151-1159. doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.03.010

Hu, H., Hua, W., Shen, A., Zhou, H., Sheng, L., Lou, W., & Zhang, G. (2021). Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence of barley exposed to simulated acid rain. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, pp. pp. 42776-42786. doi.org/10.1007/s11356-021-13807-8

Huang, J. Z., Shrestha, A., Tollenaar, M., Deen, W., Rahimian, H., & Swanton, C. J. (2000). Effects of photoperiod on the phenological development of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 80(4), pp. 929-938. doi.org/10.4141/P99-134

Humbeck, K., & Krupinska, K. (2003). The abundance of minor chlorophyll a/b binding proteins CP29 and LHCl of barley (*Hordeum vulgare* L.) during leaf senescence is controlled by light. *Journal of Experimental Botany*, 54(381), pp. 375-383. doi.org/10.1093/jxb/erg012

Hunt, R. (1990). Absolute growth rates. En *Basic Growth Analysis*. Springer, Paises bajos pp 17-24. doi.org/10.1007/978-94-010-9117-6_2

Hunt Jr, E. R., Weber, J. A., & Gates, D. M. (1985). Effects of nitrate application on *Amaranthus powellii* Wats. III. Optimal allocation of leaf nitrogen for photosynthesis and stomatal conductance. *Plant Physiology*, 79(3), pp. 619-624. doi.org/10.1104/pp.79.3.619

Ingvarsson, P. K., García, M. V., Hall, D., Luquez, V., & Jansson, S. (2006). Clinal variation in phyB2, a candidate gene for day-length-induced growth cessation and bud set, across a

latitudinal gradient in European aspen (*Populus tremula*). *Genetics*, 172(3), pp. 1845-1853. doi.org/10.1534/genetics.105.047522

Inskeep, W. P., & Bloom, P. R. (1985). Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant physiology*, 77(2), pp. 483-485. doi.org/10.1104/pp.77.2.483

Ishida, H., Yoshimoto, K., Izumi, M., Reisen, D., Yano, Y., Makino, A., Ohsumi, Y., Hanson, M.R., & Mae, T. (2008). Mobilization of rubisco and stroma-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an ATG gene-dependent autophagic process. *Plant physiology*, 148(1), pp. 142-155. doi.org/10.1104/pp.108.122770

Ishikawa, R., Aoki, M., Kurotani, K. I., Yokoi, S., Shinomura, T., Takano, M., & Shimamoto, K. (2011). Phytochrome B regulates Heading date 1 (Hd1)-mediated expression of rice florigen Hd3a and critical day length in rice. *Molecular Genetics and Genomics*, 285, 461-470. pp. doi.org/10.1007/s00438-011-0621-4

Isobe, K., Sugiyama, H., Okuda, D., Murase, Y., Harada, H., Miyamoto, M., Koide, S., Higo, M & Torigoe, Y. (2016). Effects of sowing time on the seed yield of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) in South Kanto, Japan. *Agricultural Sciences*, 7(03), 146.

Isobe, K., Sugiyama, H., Tamamushi, K., Shimizu, T., Kobashi, K., & Higo, M. (2018). Effects of day length on pollen tube elongation, embryo formation and seed development after flowering in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Seed Science Research*, 28(4), pp. 272-276. doi.org/10.1017/S0960258518000223

Itoh, H., Nonoue, Y., Yano, M., & Izawa, T. (2010). A pair of floral regulators sets critical day length for Hd3a florigen expression in rice. *Nature genetics*, 42(7), pp. 635-638. doi.org/10.1038/ng.606

Jackson, S. D. (2009). Plant responses to photoperiod. *New Phytologist*, 181(3), pp. 517-531. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02681.x

Referencias bibliográficas

Jacobsen, S. E., Jørgensen, I., & Stølen, O. (1994). Cultivation of quinoa (*Chenopodium quinoa*) under temperate climatic conditions in Denmark. *The Journal of Agricultural Science*, 122(1), pp. 47-52. doi:10.1017/S0021859600065783

James, A. L., Anderson, I. C., & Greer, H. A. L. (1965). Effects of Naphthaleneacetic Acid on Field-Grown Soybeans. *Crop Science*, 5(5), pp. 472-474. doi.org/10.2135/cropsci1965.0011183X000500050029x

Jenkins, G. (1973). The effect of sowing date and photoperiod on panicle morphology in naked oats (*Avena nuda*). *Annals of Applied Biology*, 73(1), pp. 85-94. doi.org/10.1111/j.1744-7348.1973.tb01312.x

Jennings, V. M., & Shibles, R. M. (1968). Genotypic Differences in Photosynthetic Contributions of Plant Parts to Grain Yield in Oats. *Crop Science*, 8(2), pp. 173-175. doi.org/10.2135/cropsci1968.0011183X000800020011x

Jha, P., Norsworthy, J. K., Riley, M. B., Bielenberg, D. G., & Bridges, W. (2008). Acclimation of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to shading. *Weed science*, 56(5), pp. 729-734. doi:10.1614/WS-07-203.1

Jhoson W.G. (1862). *Science and Practice of Gardening, in Which Are Explained and Illustrated the Principles That Regulate All the Operations of Horticulture*. Ulan Press, Reino Unido, pp. 382.

Jiang, H., & Egli, D. B. (1993). Shade induced changes in flower and pod number and flower and fruit abscission in soybean. *Agronomy Journal*, 85(2), pp. 221-225. doi.org/10.2134/agronj1993.00021962008500020011x

Jiang, Y., Liang, G., Yang, S., & Yu, D. (2014). Arabidopsis WRKY57 functions as a node of convergence for jasmonic acid–and auxin-mediated signaling in jasmonic acid–induced leaf senescence. *The Plant Cell*, 26(1), pp. 230-245. doi.org/10.1105/tpc.113.117838

Johnson, R. R., Willmer, C. M., & Moss, D. N. (1975). Role of Awns in Photosynthesis, Respiration, and Transpiration of Barley Spikes. *Crop Science*, 15(2), pp. 217-221.

doi.org/10.2135/cropsci1975.0011183X001500020023x

Jones, H., Leigh, F. J., Mackay, I., Bower, M. A., Smith, L. M., Charles, M. P., Jones, G., Jones, M.K., Brown, T.A., & Powell, W. (2008). Population-based resequencing reveals that the flowering time adaptation of cultivated barley originated east of the Fertile Crescent. *Molecular biology and evolution*, 25(10), pp. 2211-2219. doi.org/10.1093/molbev/msn167

Jones, R. J., & Schreiber, B. M. (1997). Role and function of cytokinin oxidase in plants. *Plant Growth Regulation*, 23, pp. 123-134. doi.org/10.1023/A:1005913311266
doi.org/10.1023/A:1005913311266

Jordi, W., Stoop, G. M., Kelepouris, K., & Van Der Krieken, W. M. (1995). Gibberellin-induced delay of leaf senescence of *Alstroemeria* cut flowering stems is not caused by an increase in the endogenous cytokinin content. *Journal of Plant Growth Regulation*, 14(3), pp. 121-127. doi.org/10.1007/BF00210913

Joshi, D. C., Sood, S., Hosahatti, R., Kant, L., Pattanayak, A., Kumar, A., Yadav, D., & Stetter, M. G. (2018). From zero to hero: the past, present and future of grain amaranth breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 131(9), pp. 1807-1823. doi.org/10.1007/s00122-018-3138-y

Jukanti, A. K., & Fischer, A. M. (2008). A high grain protein content locus on barley (*Hordeum vulgare*) chromosome 6 is associated with increased flag leaf proteolysis and nitrogen remobilization. *Physiologia Plantarum*, 132(4), pp. 426-439. doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01044.x

Jukanti, A. K., Heidlebaugh, N. M., & Parrott, D. L. (2008). Fischer, IA, McInerney, K., and Fischer, AM, Comparative Transcriptome Profiling of Near Isogenic Barley (*Hordeum vulgare*) Lines Differing in the Allelic State of a Major Grain Protein Content Locus Identifies Genes with Possible Roles in Leaf Senescence and Nitrogen Reallocation. *New Phytol*, 177, pp. 333-349. 10.1111/j.1469-8137.2007.02270.x

Kandel, M., Rijal, T. R., & Kandel, B. P. (2021). Evaluation and identification of stable and high yielding genotypes for varietal development in amaranthus (*Amaranthus hypochondriacus* L.)

Referencias bibliográficas

under hilly region of Nepal. *Journal of Agriculture and Food Research*, 5, 100158. doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100158

Kamínek, M., & Luštinec, J. (1978). Sensitivity of oat leaf chlorophyll retention bioassay to natural and synthetic cytokinins. *Biologia plantarum*, 20, pp. 377-382. doi.org/10.1007/BF02923332

Kappers, I. F., Jordi, W., Maas, F. M., Stoopen, G. M., & Van Der Plas, L. H. (1998). Gibberellin and phytochrome control senescence in alstroemeria leaves independently. *Physiologia Plantarum*, 103(1), pp. 91-98. doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030111.x

Kantar, M., & Porter, P. (2014). Relationship between planting date, growing degree days and the winter rye (*Secale cereale* L.) variety “Rymin” in Minnesota. *Crop Management*, 13(1), pp. 1-9. doi.org/10.2134/CM-2013-0096-RS

Kantolic, A.G., & Slafer, G.A. (2001). Photoperiod sensitivity after flowering and seed number determination in indeterminate soybean cultivars. *Field Crops Research*. 72(2), pp. 109-118. doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00168-X

Kantolic, A.G., & Slafer, G.A. (2005). Reproductive development and yield components in indeterminate soybean as affected by post-flowering photoperiod. *Field Crops Research*. 93(2-3), pp. 212-222. doi.org/10.1016/j.fcr.2004.10.001

Kantolic, A.G., & Slafer, G.A. (2007). Development and Seed Number in Indeterminate Soybean as Affected by Timing and Duration of Exposure to Long Photoperiods after Flowering. *Annal of Botany*. 99(5), pp. 925-933. doi.org/10.1093/aob/mcm033

Kantolic, A.G., Peralta, G.E., & Slafer, G.A. (2013). Seed number responses to extended photoperiod and shading during reproductive stages in indeterminate soybean. *European Journal of Agronomy*. 51, pp. 91-100. doi.org/10.1016/j.eja.2013.07.006

Kasahara, H. (2016). Current aspects of auxin biosynthesis in plants. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80(1), pp. 34-42. doi.org/10.1080/09168451.2015.1086259

Kebrom, T. H., Spielmeyer, W., & Finnegan, E. J. (2013). Grasses provide new insights into regulation of shoot branching. *Trends in plant science*, 18(1), pp. 41-48. doi.org/10.1016/j.tplants.2012.07.001

Kelly, M. O., Davies, P. J., & Woolhouse, H. W. (1988). The control of whole plant senescence. *Critical reviews in plant sciences*, 7(2), pp. 139-173. doi.org/10.1080/07352688809382262

Kelly, S. J, Tambussi, E., A, & Guiamet, J.J. (2021). Retardo de la senescencia y modificación en el número de ramificaciones y silicuas bajo fotoperiodos no inductivos en post-floración en *Arabidopsis thaliana*. XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica (6 - 8 de septiembre 2021), Oro Verde, Entre Rios, Argentina. pp. 196-197. Disponible en <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/BSAB/issue/view/2486> [último acceso 6/5/2023]

Kernich, G. C., & Halloran, G. M. (1996). Temperature effects on the duration of the spikelet growth phase and spikelet abortion in barley. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 176(1), pp. 23-29. doi.org/10.1111/j.1439-037X.1996.tb00442.x

Khanna-Chopra, R., & Sinha, S. K. (1988). Enhancement of drought-induced senescence by the reproductive sink in fertile lines of wheat and sorghum. *Annals of Botany*, 61(6), pp. 649-653. doi.org/10.1093/aob/61.6.649

Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2018). Cytokinin signaling in plant development. *Development*, 145(4), dev149344. doi.org/10.1242/dev.149344

Kim, J. I., Murphy, A. S., Baek, D., Lee, S. W., Yun, D. J., Bressan, R. A., & Narasimhan, M. L. (2011a). YUCCA6 over-expression demonstrates auxin function in delaying leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of experimental botany*, 62(11), pp. 3981-3992. doi.org/10.1093/jxb/err094

Kim, J., Shon, J., Lee, C. K., Yang, W., Yoon, Y., Yang, W. H., Kim., Y, & Lee, B. W. (2011b). Relationship between grain filling duration and leaf senescence of temperate rice under high temperature. *Field Crops Research*, 122(3), pp. 207-213. doi.org/10.1016/j.fcr.2011.03.014

Referencias bibliográficas

Kim, H. J., Ryu, H., Hong, S. H., Woo, H. R., Lim, P. O., Lee, I. C., Sheen, J., Nam, G.H., & Hwang, I. (2006). Cytokinin-mediated control of leaf longevity by AHK3 through phosphorylation of ARR2 in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), pp. 814-819. doi.org/10.1073/pnas.050515010

Kim, J., Kim, J. H., Lyu, J. I., Woo, H. R., & Lim, P. O. (2018). New insights into the regulation of leaf senescence in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 69(4), pp. 787-799. doi.org/10.1093/jxb/erx287

King, R. W., Wardlaw, I. F., & Evans, L. T. (1967). Effect of assimilate utilization on photosynthetic rate in wheat. *Planta*, 77, pp. 261-276. doi.org/10.1007/BF00385296

King, R. W., & Heide, O. M. (2009). Seasonal flowering and evolution: the heritage from Charles Darwin. *Functional Plant Biology*, 36(12), pp. 1027-1036. doi.org/10.1071/FP09170

Kippes, N., Van Gessel, C., Hamilton, J., Akpinar, A., Budak, H., Dubcovsky, J., & Pearce, S. (2020). Effect of phyB and phyC loss-of-function mutations on the wheat transcriptome under short- and long-day photoperiods. *BMC plant biology*, 20(1), pp. 1-17. doi.org/10.1186/s12870-020-02506-0

Klinck, H. R., & Sim, S. L. (1977). Influence of temperature and photoperiod on growth and yield components in oats (*Avena sativa*). *Canadian Journal of Botany*, 55(1), pp. 96-106. doi.org/10.1139/b77-016

Koike, T. (2004). Autumn Coloration, Carbon Acquisition and Leaf Senescence. En Noodén L.D. (ed.), *Senescence and programmed cell death in plants*. Academic Press, Estados Unidos, pp. 245-258 doi.org/10.1016/B978-012520915-1/50018-7

Kokubum, M. (2011). Physiological mechanisms regulating flower abortion in soybean. En Tzi-Bun Ng (Ed) *Soybean-Biochemistry, Chemistry and Physiology*. IntechOpen, China, pp. 541-554. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/soybean-biochemistry-chemistry-and-physiology/physiological-mechanisms-regulating-flower-abortion-in-soybean> [Último acceso el 6/5/2023]

Kokubum, M., & Honda, I. (2000). Intra-raceme variation in pod-set probability is associated with cytokinin content in soybeans. *Plant production science*, 3(4), pp. 354-359. doi.org/10.1626/pp.3.354

Koller, H. R., Nyquist, W. E., & Chorush, I. S. (1970). Growth Analysis of the Soybean Community. *Crop Science*, 10(4), pp. 407-412. doi.org/10.2135/cropsci1970.0011183X001000040028x

Koller, D., Kigel, J., & Ovadia, S. (1977a). A kinetic analysis of the facultative photoperiodic response in *Amaranthus retroflexus* L. *Planta*. 136(1), pp. 13-19. doi.org/10.1007/BF00387918

Koller, D., Kigel, J., & Ovadia, S. (1977b). The facultative photoperiodic response in the reproductive development of *Amaranthus retroflexus* L.: Changes in the dose response during ontogeny. *Planta*. 137(2), pp. 133-138. doi.org/10.1007/BF00387549

Komenda, J., & Sobotka, R. (2019). Chlorophyll-binding subunits of photosystem I and II: Biosynthesis, chlorophyll incorporation and assembly. *Advances in Botanical Research* 91, pp. 195-223. doi.org/10.1016/bs.abr.2019.02.001

Koprna, R., Humplík, J. F., Špíšek, Z., Bryksová, M., Zatloukal, M., Mik, V., Novák, O., Nisler, J., & Doležal, K. (2020). Improvement of tillering and grain yield by application of cytokinin derivatives in wheat and barley. *Agronomy*, 11(1), 67. doi.org/10.3390/agronomy11010067

Kottmann, L., Wilde, P., & Schittenhelm, S. (2016). How do timing, duration, and intensity of drought stress affect the agronomic performance of winter rye? *European Journal of Agronomy*, 75, pp. 25-32. doi.org/10.1016/j.eja.2015.12.010

Krieger-Liszkay, A., Krupinska, K., & Shimakawa, G. (2019). The impact of photosynthesis on initiation of leaf senescence. *Physiologia plantarum*, 166(1), pp. 148-164. doi.org/10.1111/ppl.12921

Referencias bibliográficas

Krochko, J. E., Abrams, G. D., Loewen, M. K., Abrams, S. R., & Cutler, A. J. (1998). (+)-Abscisic acid 8'-hydroxylase is a cytochrome P450 monooxygenase. *Plant physiology*, 118(3), pp. 849-860. doi.org/10.1104/pp.118.3.849

Krupinska, K., & Humbert, K., (2004). Photosynthesis and Chloroplast Breakdown. En: Nooden L.D. (ed.) *Senescence and programmed cell death in plants*. Academic Press, Estados Unidos, pp. 169-187. doi.org/10.1016/B978-012520915-1/50014-X

Kuhnle, J. A., Fuller, G., Corse, J., & Mackey, B. E. (1977). Antisenescent activity of natural cytokinins. *Physiologia Plantarum*, 41(1), pp. 14-21. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1977.tb01514.x

Kuromori, T., Seo, M., & Shinozaki, K. (2018). ABA transport and plant water stress responses. *Trends in plant science*, 23(6), pp. 513-522. doi.org/10.1016/j.tplants.2018.04.001

Labraña, X., & Araus, J. (1991). Effect of foliar applications of silver nitrate and ear removal on carbon dioxide assimilation in wheat flag leaves during grain-filling. *Field Crops Research*, 28(1-2), pp. 149-162. doi.org/10.1016/0378-4290(91)90080-F

Lambers, H., & Oliveira, R. S. (2019). Introduction: History, Assumptions, and Approaches. En Lambers, H., & Oliveira, R. S. (Eds.), *Plant physiological ecology* (3 ed.). Springer Nature, Switzerland, pp. 1-10. doi.org/10.1007/978-3-030-29639-1_1

Lang, A., Chailakhyan, M. K., & Frolova, I. A. (1977). Promotion and inhibition of flower formation in a dayneutral plant in grafts with a short-day plant and a long-day plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(6), pp. 2412-2416. doi.org/10.1073/pnas.74.6.2412

Langewisch, T., Lenis, J., Jiang, G. L., Wang, D., Pantalone, V., & Bilyeu, K. (2017). The development and use of a molecular model for soybean maturity groups. *BMC Plant Biology*, 17, pp. 1-13. doi.org/10.1186/s12870-017-1040-4

Laude, H. M., Ridley, J. R., & Suneson, C. A. (1967). Tiller Senescence and Grain Development in Barley. *Crop science*, 7(3), pp. 231-233. doi.org/10.2135/cropsci1967.0011183X000700030018x

Lauer, J. G., & Simmons, S. R. (1985). Photoassimilate Partitioning of Main Shoot Leaves in Field Grown Spring Barley. *Crop Science*, 25(5), pp. 851-855. doi.org/10.2135/cropsci1985.0011183X002500050030x

Lavini, A., Pulvento, C., d'Andria, R., Riccardi, M., & Jacobsen, S. E. (2016). Effects of saline irrigation on yield and qualitative characterization of seed of an amaranth accession grown under Mediterranean conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 154(5), pp. 858-869. doi:10.1017/S0021859615000659

Lee, S., & Masclaux-Daubresse, C. (2021). Current understanding of leaf senescence in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4515. doi.org/10.3390/ijms22094515

Lee, J., Kang, M. H., Kim, J. Y., & Lim, P. O. (2021). The Role of Light and Circadian Clock in Regulation of Leaf Senescence. *Frontiers in Plant Science*, 12. 669170

Leopold, A. C., Niedergang-Kamien, E., & Janick, J. (1959). Experimental Modification of Plant Senescence. *Plant Physiology*, 34(5), pp. 570-573. doi: 10.1104/pp.34.5.570

Lesjak, J., & Calderini, D. F. (2017). Increased night temperature negatively affects grain yield, biomass and grain number in Chilean quinoa. *Frontiers in Plant Science*, 8, 352. doi.org/10.3389/fpls.2017.00352

Leyser, O. (2018). Auxin signaling. *Plant physiology*, 176(1), pp.465-479. doi.org/10.1104/pp.17.00765

Li, J., Wang, X., Song, W., Huang, X., Zhou, J., Zeng, H., Sun, S., Jian, H., Li, W., Zhou, X., Li, S., Chen, P., Wu, C. Guo, Y., Han, T & Qiu, L. (2017). Genetic variation of maturity groups and four E genes in the Chinese soybean mini core collection. *PloS one*, 12(2), e0172106. doi.org/10.1371/journal.pone.0172106

Lichtenthaler, H. K. (1998). The stress concept in plants: an introduction. *Annals of the New York Academy of sciences*, 851, pp. 187-198. DOI 10.1111/j.1749-6632.1998.tb08993.x

Referencias bibliográficas

Lim, P. O., Kim, H. J., & Gil Nam, H. (2007). Leaf senescence. *Annual Review of Plant Biology*, 58, pp.115-136. doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105316

Lin, Y. C., Hu, Y. G., Ren, C. Z., Guo, L. C., Wang, C. L., Jiang, Y., Wang, X.J., Phendukani.H., & Zeng, Z. H. (2013). Effects of nitrogen application on chlorophyll fluorescence parameters and leaf gas exchange in naked oat. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(12), pp. 2164-2171. doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60346-9

Lin, X., Liu, B., Weller, J. L., Abe, J., & Kong, F. (2021). Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(6), pp. 981-994. doi.org/10.1111/jipb.13021

Lindoo, S. J., & Nooden, L. D. (1976). The interrelation of fruit development and leaf senescence in 'Anoka' soybeans. *Botanical Gazette*, 137(3), pp. 218-223. doi.org/10.1086/336861

Lindoo, S. J., & Noodén, L. D. (1977). Studies on the behavior of the senescence signal in Anoka soybeans. *Plant Physiology*, 59(6), pp. 1136-1140. doi.org/10.1104/pp.59.6.1136

Lindoo, S. J., & Nooden, L. D. (1978). Correlation of cytokinins and abscisic acid with monocarpic senescence in soybeans. *Plant and cell physiology*, 19(6), pp. 997-1006. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a075689

Liu, L., Li, H., Zeng, H., Cai, Q., Zhou, X., & Yin, C. (2016). Exogenous jasmonic acid and cytokinin antagonistically regulate rice flag leaf senescence by mediating chlorophyll degradation, membrane deterioration, and senescence-associated genes expression. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35, pp. 366-376. doi.org/10.1007/s00344-015-9539-0

Liu, F., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., & Jensen, C. R. (2005). Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. *Environmental and Experimental Botany*, 54(1), pp. 33-40. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.05.002

MackKown, C. T., Van Sanford, D. A., & Zhang, N. (1992). Wheat vegetative nitrogen compositional changes in response to reduced reproductive sink strength. *Plant Physiology*, 99(4), pp. 1469-1474. doi: 10.1104/pp.99.4.1469

Mae, T., & Ohira, K. (1981). The remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant and cell physiology*, 22(6), pp. 1067-1074. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076248

Mae, T. (2004). Leaf senescence and nitrogen metabolism. En Noodén L.D. (ed.), *Senescence and programmed cell death in plants*. Academic Press, Estados Unidos, pp. 157-168. doi.org/10.1016/B978-012520915-1/50018-7

Mahadevan, M., Calderini, D. F., Zwer, P. K., & Sadras, V. O. (2016). The critical period for yield determination in oat (*Avena sativa* L.). *Field Crops Research*, 199, pp. 109-116. doi.org/10.1016/j.fcr.2016.09.021

Major, D. J. (1980). Photoperiod response characteristics controlling flowering of nine crop species. *Canadian Journal of Plant Science*, 60(3), pp. 777-784. doi.org/10.4141/cjps80-115

Major, D. J., Johnson, D. R., Tanner, J. W., & Anderson, I. C. (1975). Effects of daylength and temperature on soybean development. *Crop Science*, 15(2), pp. 174-179. doi.org/10.2135/cropsci1975.0011183X001500020009x

Major, D. J., Kiniry, J. R., & Hodges, T. (1991). Predicting daylength effects on phenological processes. En Hodges, T (Ed.) *Predicting crop phenology*. CRC Press, Estados Unidos, pp 15-28. Disponible en <https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/30980500/Major%20Chapter%204.pdf> [Último acceso 6/5/2023]

Manupeerapan, T., Davidson, J. L., Pearson, C. J., & Christian, K. R. (1992). Differences in flowering responses of wheat to temperature and photoperiod. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43(3), pp. 575-584. doi.org/10.1071/AR9920575

Marcellos, H., & Single, W. V. (1972). The influence of cultivar, temperature and photoperiod on post-flowering development of wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 23(4), pp. 533-540. doi.org/10.1071/AR9720533

Referencias bibliográficas

Martignone, R. A., Guiamet, J. J., & Nakayama, F. (1987). Nitrogen partitioning and leaf senescence in soybean as related to nitrogen supply. *Field Crops Research*, 17(1), pp. 17-24. doi.org/10.1016/0378-4290(87)90078-5

Martínez-Núñez, M., Ruiz-Rivas, M., Vera-Hernández, P. F., Bernal-Muñoz, R., Luna-Suárez, S., & Rosas-Cárdenas, F. F. (2019). The phenological growth stages of different amaranth species grown in restricted spaces based in BBCH code. *South African Journal of Botany*, 124, pp. 436-443. doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.035

Mas, P., & Yanovsky, M. J. (2009). Time for circadian rhythms: plants get synchronized. *Current opinion in plant biology*, 12(5), pp.574-579. doi.org/10.1016/j.pbi.2009.07.010

Masciarelli, O., Urbani, L., Reinoso, H., & Luna, V. (2013). Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings. *Journal of microbiology*, 51(5), pp. 590-597. doi.org/10.1007/s12275-013-3136-3

Masciarelli, O., Llanes, A., & Luna, V. (2014). A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiological research*, 169(7-8), pp. 609-615. doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.001

Matthews, A., Carroll, B.J., & Gresshoff, P.M. (1989). A new non-nodulation gene in soybean. *Journal of heredity* 80(5), pp. 357-360. doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a110874

Mattson, N. S., & Erwin, J. E. (2005). The impact of photoperiod and irradiance on flowering of several herbaceous ornamentals. *Scientia horticultrae*, 104(3), pp. 275-292. doi.org/10.1016/j.scienta.2004.08.018

Maydup, M. L., Antonietta, M., Guiamet, J. J., Graciano, C., López, J. R., & Tambussi, E. A. (2010). The contribution of ear photosynthesis to grain filling in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field crops research*, 119(1), pp. 48-58. doi.org/10.1016/j.fcr.2010.06.014

McCaig, T. N., & Clarke, J. M. (1982). Seasonal Changes in Nonstructural Carbohydrate Levels of Wheat and Oats Grown in a Semiarid Environment. *Crop Science*, 22(5), pp. 963-970. doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200050016x

McClung, C. R. (2006). Plant circadian rhythms. *The Plant Cell*, 18(4), pp. 792-803. doi.org/10.1105/tpc.106.040980

McKenzie, H. A., & Wallace, H. S. (1954). The Kjeldahl determination of nitrogen: a critical study of digestion conditions-temperature, catalyst, and oxidizing agent. *Australian Journal. Chemistry* 7(1), pp. 55-70. doi.org/10.1071/CH9540055

Miceli, F., Crafts-Brandner, S. J., & Egli, D. B. (1995). Physical restriction of pod growth alters development of soybean plants. *Crop science*, 35(4), pp. 1080-1085. doi.org/10.2135/cropsci1995.0011183X003500040027x

Michaeli, S., Honig, A., Levanony, H., Peled-Zehavi, H., & Galili, G. (2014). Arabidopsis ATG8 INTERACTING PROTEIN 1 is involved in autophagy-dependent vesicular trafficking of plastid proteins to the vacuole. *The Plant Cell*, 26(10), pp. 4084-4101. doi.org/10.1105/tpc.114.129999

Mickelson, S., See, D., Meyer, F. D., Garner, J. P., Foster, C. R., Blake, T. K., & Fischer, A. M. (2003). Mapping of QTL associated with nitrogen storage and remobilization in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves. *Journal of Experimental Botany*, 54(383), pp. 801-812. doi.org/10.1093/jxb/erg084

Mir, N. A., Riar, C. S., & Singh, S. (2018). Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 75, pp. 170-180. doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.016

Miralles, D. J., & Richards, R. A. (2000). Responses of leaf and tiller emergence and primordium initiation in wheat and barley to interchanged photoperiod. *Annals of Botany*, 85(5), pp. 655-663. doi.org/10.1006/anbo.2000.1121

Referencias bibliográficas

Miralles, D. J., Richards, R. A., & Slafer, G. A. (2000). Duration of the stem elongation period influences the number of fertile florets in wheat and barley. *Functional Plant Biology*, 27(10), pp. 931-940. doi.org/10.1071/PP00021

Miralles, D. J., Ferro, B. C., & Slafer, G. A. (2001). Developmental responses to sowing date in wheat, barley and rapeseed. *Field Crops Research*, 71(3), pp. 211-223. doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00161-7

Miralles, D.J., Spinedi, M.V., Abeledo, L.G., Abelleira, D. (2007). Variability on Photoperiod Responses in Argentinean Wheat Cultivars Differing in Length of Crop Cycle. En Buck, H.T., Nisi, J.E., Salomón, N. (eds) *Wheat Production in Stressed Environments. Developments in Plant Breeding, vol 12*. Springer, Paises bajos, pp. 599-609 doi.org/10.1007/1-4020-5497-1_72

Miryeganeh, M., Yamaguchi, M., & Kudoh, H. (2018). Synchronisation of Arabidopsis flowering time and whole-plant senescence in seasonal environments. *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1-10. DOI: 10.1038/s41598-018-28580-x

Mittelheuser, C. J., & Van Steveninck, R. F. M. (1971). The ultrastructure of wheat leaves I. Changes due to natural senescence and the effects of kinetin and ABA on detached leaves incubated in the dark. *Protoplasma*, 73, pp. 239-252. doi.org/10.1007/BF01275598

Mockler, T., Yang, H., Yu, X., Parikh, D., Cheng, Y. C., Dolan, S., & Lin, C. (2003). Regulation of photoperiodic flowering by Arabidopsis photoreceptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), pp. 2140-2145. doi.org/10.1073/pnas.0437826100

Mondal, M. H., Brun, W. A., & Brenner, M. L. (1978). Effects of sink removal on photosynthesis and senescence in leaves of soybean (*Glycine max L.*) plants. *Plant Physiology*, 61(3), pp. 394-397. doi.org/10.1104/pp.61.3.394

Montechiarini, N. H., Delgado, L., Morandi, E. N., Carrillo, N. J., & Gosparini, C. O. (2021). The expansin EXP1 gene in the elongation zone is induced during soybean embryonic axis germination and differentially expressed in response to ABA and PEG treatments. *Seed Science Research*, 31(1), pp. 60-68. doi: 10.1017/S0960258520000379

Morandi, E. N., Casano, L. M., & Reggiardo, L. M. (1988). Post-flowering photoperiodic effect on reproductive efficiency and seed growth in soybean. *Field Crops Research*, 18(4), pp. 227-241. doi.org/10.1016/0378-4290(88)90017-2

Morandi, E.N., Schuster, J.R., & Brenner, M.L. (1990). Photoperiodically Induced Changes in Seed Growth Rate of Soybean as Related to Endogenous Concentrations of ABA and Sucrose in Seed Tissues. *Annals of botany* 66(5), pp. 605-611. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088070

Morita, R., Sato, Y., Masuda, Y., Nishimura, M., & Kusaba, M. (2009). Defect in non-yellow coloring 3, an α/β hydrolase-fold family protein, causes a stay-green phenotype during leaf senescence in rice. *The Plant Journal*, 59(6), pp. 940-952. doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03919.x

Moss, D. N. (1962). Photosynthesis and barrenness. *Crop Science*, 2(4), pp. 366-367. doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200040032x

Mourtzinis, S., & Conley, S. P. (2017). Delineating soybean maturity groups across the United States. *Agronomy Journal*, 109(4), pp. 1397-1403. doi.org/10.2134/agronj2016.10.0581

Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2004). Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology*, 31(3), pp. 203-216. https://doi.org/10.1071/FP03236

Nass, H. G., & Reiser, B. (1975). Grain filling period and grain yield relationships in spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 55(3), pp. 673-678. doi.org/10.4141/cjps75-107

Nehe, A. S., Misra, S., Murchie, E. H., Chinnathambi, K., Tyagi, B. S., & Foulkes, M. J. (2020). Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and protein concentration in Indian wheat cultivars. *Field Crops Research*, 251, 107778. doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107778

Referencias bibliográficas

Neumann, P. M., Tucker, A. T., & Noodén, L. D. 1983. Characterization of leaf senescence and pod development in soybean explants. *Plant Physiology*, 72(1), pp. 182-185. doi.org/10.1104/pp.72.1.182

Nico, M., Miralles, D. J., & Kantolic, A. G. (2015). Post-flowering photoperiod and radiation interaction in soybean yield determination: Direct and indirect photoperiodic effects. *Field Crops Research*, 176, pp.45-55. doi.org/10.1016/j.fcr.2015.02.018

Nico, M., Mantese, A.I., Miralles, D.J., & Kantolic, A.G. (2016). Soybean fruit development and set at the node level under combined photoperiod and radiation conditions. *Journal of Experimental Botany*. 67(1), pp. 365-377. doi.org/10.1093/jxb/erv475

Nico, M., Miralles, D. J., & Kantolic, A. G. (2019). Natural post-flowering photoperiod and photoperiod sensitivity: Roles in yield-determining processes in soybean. *Field crops research*, 231, pp. 141-152. doi.org/10.1016/j.fcr.2018.10.019

Nishimura, K., Kato, Y., & Sakamoto, W. (2016). Chloroplast proteases: updates on proteolysis within and across suborganellar compartments. *Plant physiology*, 171(4), pp. 2280-2293. doi.org/10.1104/pp.16.00330

Nishimura, K., Kato, Y., & Sakamoto, W. (2017). Essentials of proteolytic machineries in chloroplasts. *Molecular plant*, 10(1), pp. 4-19. doi.org/10.1016/j.molp.2016.08.005

Nissly, C. R., Bernard, R. L., & Hittle, C. N. (1981). Variation in Photoperiod Sensitivity for Time of Flowering and Maturity Among Soybean Strains of Maturity Group III. *Crop Science*, 21(6), pp. 833-836. doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100060009x

Noh, Y. S., & Amasino, R. M. (1999). Identification of a promoter region responsible for the senescence-specific expression of SAG12. *Plant molecular biology*, 41, pp. 181-194. doi.org/10.1023/A:1006342412688

Nonokawa, K., Kokubun, M., Nakajima, T., Nakamura, T., & Yoshida, R. (2007). Roles of auxin and cytokinin in soybean pod setting. *Plant Production Science*, 10(2), pp. 199-206. doi.org/10.1626/pp.10.199

Nooden, L. D. (1986). Synergism between gibberellins and cytokinin in delaying leaf senescence in soybean explants. *Plant cell physiology* 27 (3), pp. 577-579. Disponible en <https://worldveg.tind.io/record/3578/> [último acceso 6/5/2023]

Noodén, L.D. (2004). Introductions. En Noodén L.D. (ed.), *Senescence and programmed cell death in plants*. Academic Press, Estados Unidos, pp. 1-18 doi.org/10.1016/B978-012520915-1/50018-7

Nooden, L. D., & Obermeyer, W. R. 1981. Changes in abscisic acid translocation during pod development and senescence in soybeans. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 176(9), pp. 859-868. doi.org/10.1016/S0015-3796 (81)80070-4

Noodén, L. D., & Murray, B. J. (1982). Transmission of the monocarpic senescence signal via the xylem in soybean. *Plant Physiology*, 69(4), pp. 754-756. doi.org/10.1104/pp.69.4.754

Noodén, L. D., & Guiamet, J. J. (1989). Regulation of assimilation and senescence by the fruit in monocarpic plants. *Physiologia Plantarum*, 77(2), pp. 267-274. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb04980.x

Nooden, L. D., & Letham, D. S. (1993). Cytokinin metabolism and signalling in the soybean plant. *Functional Plant Biology*, 20(5), pp. 639-653. doi.org/10.1071/PP9930639

Nooden, L. D., Rupp, D. C., & Derman, B. D. (1978). Separation of seed development from monocarpic senescence in soybeans. *Nature*, 271(5643), pp. 354-357. doi.org/10.1038/271354a0

Nooden, L. D., Kahanak, G. M., & Okatan, Y. (1979). Prevention of monocarpic senescence in soybeans with auxin and cytokinin: an antidote for self-destruction. *Science*, 206(4420), pp. 841-843. DOI: 10.1126/science.206.4420.841

Nooden, L. D., Singh, S., & Letham, D. S. (1990a). Correlation of xylem sap cytokinin levels with monocarpic senescence in soybean. *Plant Physiology*, 93(1), pp. 33-39. doi.org/10.1104/pp.93.1.33

Referencias bibliográficas

Nooden, L. D., Guiamet, J. J., Singh, S., Letham, D. S., Tsuji, J., & Schneider, M. J. (1990b). Hormonal control of senescence. En Pharis, R.P., & Rood, S.B. (eds) *Plant Growth Substances 1988*. Springer, Alemania, pp 537-546. doi.org/10.1007/978-3-642-74545-4_62

Noodén, L. D., & Penney, J. P. (2001). Correlative controls of senescence and plant death in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *Journal of Experimental Botany*, 52(364), pp. 2151-2159. doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2151

Noodén, L.D., Guiamet. J.J., John, I. (2004). Whole plant senescence. En Noodén L.D. (ed.), *Senescence and programmed cell death in plants*. Academic Press, Estados Unidos, pp. 227-244. doi.org/10.1016/B978-012520915-1/50018-7

Nosberger, J., & Thone, G. N. (1965). The effect of removing florets or shading the ear of barley on production and distribution of dry matter. *Annals of Botany*, 29(4), pp.635-644. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083977

Novák, O., Hauserová, E., Amakorová, P., Doležal, K., & Strnad, M. (2008). Cytokinin profiling in plant tissues using ultra-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Phytochemistry*, 69(11), pp. 2214-2224. doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.04.022

Novák, O., Tarkowski, P., Tarkowská, D., Doležal, K., Lenobel, R., & Strnad, M. (2003). Quantitative analysis of cytokinins in plants by liquid chromatography–single-quadrupole mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 480(2), pp. 207-218. doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00025-4

Ojeda, J. J., Caviglia, O. P., Agnusdei, M. G., & Errecart, P. M. (2018). Forage yield, water-and solar radiation-productivities of perennial pastures and annual crops sequences in the south-eastern Pampas of Argentina. *Field Crops Research*, 221, pp. 19-31. doi.org/10.1016/j.fcr.2018.02.010

Osborne, D. J., & McCalla, D. R. (1961). Rapid bioassay for kinetin & kinins using senescing leaf tissue. *Plant Physiology*, 36(2), pp. 219-221 doi: 10.1104/pp.36.2.219

Otegui, M. S., Noh, Y. S., Martínez, D. E., Vila Petroff, M. G., Andrew Staehelin, L., Amasino, R. M., & Guamet, J. J. (2005). Senescence-associated vacuoles with intense proteolytic activity develop in leaves of *Arabidopsis* and soybean. *The Plant Journal*, 41(6), pp. 831-844. doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02346.x

Otegui, M. S. (2018). Vacuolar degradation of chloroplast components: autophagy and beyond. *Journal of experimental botany*, 69(4), pp. 741-750. doi.org/10.1093/jxb/erx234

Ougham, H. J., Morris, P., & Thomas, H. (2005). The Colors of Autumn Leaves as Symptoms of Cellular Recycling and Defenses Against Environmental Stresses. *Current topics in developmental biology*, 66(1), pp. 135-160. doi.org/10.1016/S0070-2153(05)66004-8

Park, S. H., Jeong, J. S., Seo, J. S., Park, B. S., & Chua, N. H. (2019). *Arabidopsis* ubiquitin-specific proteases UBP12 and UBP13 shape ORE1 levels during leaf senescence induced by nitrogen deficiency. *New Phytologist*, 223(3), pp. 1447-1460. doi.org/10.1111/nph.15879

Parthier, B. (1990). Jasmonates: hormonal regulators or stress factors in leaf senescence? *Journal of Plant Growth Regulation*, 9, pp.57-63. doi.org/10.1007/BF02041942

Peeters, K. M., & Van Laere, A. J. (1994). Amino acid metabolism associated with N-mobilization from the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.) during grain development. *Plant, Cell & Environment*, 17(2), pp. 131-141. doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00276.x

Pheloung, P. C., & Siddique, K. H. M. (1991). Contribution of stem dry matter to grain yield in wheat cultivars. *Functional Plant Biology*, 18(1), pp. 53-64. doi.org/10.1071/PP9910053

Peltonen-Sainio, P., Rajala, A., Simmons, S., Caspers, R., & Stuthman, D. D. (2003). Plant growth regulator and daylength effects on preanthesis main shoot and tiller growth in conventional and dwarf oat. *Crop science*, 43(1), pp. 227-233. doi.org/10.2135/cropsci2003.2270

Referencias bibliográficas

Peltonen-Sainio, P., Jauhiainen, L., & Hakala, K. (2011). Crop responses to temperature and precipitation according to long-term multi-location trials at high-latitude conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 149(1), pp. 49-62. DOI:10.1017/S0021859610000791

Peoples, M. B. and Dalling, M. J. (1988) The interplay between proteolysis and amino acid metabolism during senescence and nitrogen reallocation. En Nooden, L.D., & Leopold, A.C. (Eds) *Senescence and Aging in Plants*. Academic Press, Estados Unidos, pp 181–217.

Peoples, M.B., Faizah, A.W., Rerkasem, B., & Herridge, D.F. (1989). Method for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. *Australian Centre for International Agricultural Research monograph series*, Australia. pp. 1-81. Disponible en <https://aci-ar.gov.au/publication/books-and-manuals/methods-evaluating-nitrogen-fixation-nodulated-legumes-field> [último acceso 6/5/2023]

Pérez-Gianmarco, T. I., Slafer, G. A., & González, F. G. (2018). Wheat pre-anthesis development as affected by photoperiod sensitivity genes (Ppd-1) under contrasting photoperiods. *Functional Plant Biology*, 45(6), pp. 645-657. doi.org/10.1071/FP17195

Pérez-Gianmarco, T. I., Slafer, G. A., & González, F. G. (2019). Photoperiod-sensitivity genes shape floret development in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 70(4), 1339-1348. doi.org/10.1093/jxb/ery449

Peterson, D. M., Youngs, V. L., Schrader, L. E., Smith, D., & Cataldo, D. (1975). Assimilation and remobilization of nitrogen and carbohydrates in oats, especially as related to groat protein concentration. *Canadian Journal of Plant Science*, 55(1), pp. 19-28. doi.org/10.4141/cjps75-002

Pietrini, F., Iori, V., Beone, T., Mirabile, D., & Zacchini, M. (2017). Effects of a ladle furnace slag added to soil on morpho-physiological and biochemical parameters of *Amaranthus paniculatus* L. plants. *Journal of hazardous materials*, 329, pp. 339-347. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.01.050

Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team (2020). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-149. Disponible en CRAN.R-project.org/package=nlme [último acceso 6/5/2023]

Piper, E. L., Smit, M. A., Boote, K. J., Jones, J. W., (1996). The role of daily minimum temperature in modulating the development rate to flowering in soybean. *Field Crops Research*. 47(2-3), pp. 211-220. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(96\)00015-9](https://doi.org/10.1016/0378-4290(96)00015-9)

Pokorna, E., Hluska, T., Galuszka, P., Hallmark, H. T., Dobrev, P. I., Zaveska Drabkova, L., Filipi, T., Holubová, K., Plíhal, O., Rashotte, A.M., Filepová, R., Malbeck, J., Novák, O., Spíchal, L., Brzobohatý, B., Pavel Mazura, P., Lenka Zahajská, L., & Motyka, V. (2020). Cytokinin N-glucosides: Occurrence, metabolism and biological activities in plants. *Biomolecules*, 11(1), 24. doi.org/10.3390/biom11010024

Polle, A., & Chen, S. (2015). On the salty side of life: molecular, physiological and anatomical adaptation and acclimation of trees to extreme habitats. *Plant, Cell & Environment*, 38(9), pp. 1794-1816. doi.org/10.1111/pce.12440

Polley, H. W., Johnson, H. B., Mayeux, H. S., & Malone, S. R. (1993). Physiology and growth of wheat across a subambient carbon dioxide gradient. *Annals of Botany*, 71(4), pp. 347-356. doi.org/10.1006/anbo.1993.1044

Polson, D. E. (1972). Day-Neutrality in Soybeans. *Crop Science*, 12(6), pp. 773-776. doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200060017x

Porter, J. R., Kirby, E. J. M., Day, W., Adam, J. S., Appleyard, M., Ayling, S., Baker, C.K., Beale, P., Belford, R.K., Biscoe, P.V., Chapman, A., Fuller, M.P., Hampson, J., Hay, R.K.M., Hough, M.N., Matthews, S., Thompson, W.J., Weir, A.H., Anne Willington, V.B., & Wood, D. W. (1987). An analysis of morphological development stages in Avalon winter wheat crops with different sowing dates and at ten sites in England and Scotland. *The Journal of Agricultural Science*, 109(1), pp.107-121. doi.org/10.1017/S0021859600081053

Power, J. F., & Alessi, J. (1978). Tiller development and yield of standard and semidwarf spring wheat varieties as affected by nitrogen fertilizer. *The Journal of Agricultural Science*, 90(1), pp. 97-108. doi.org/10.1017/S0021859600048632

Referencias bibliográficas

Pulvento, C., Sellami, M. H., & Lavini, A. (2021). Yield and quality of *Amaranthus hypochondriacus* grain amaranth under drought and salinity at various phenological stages in southern Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(12), pp. 5022-5033. doi.org/10.1002/jsfa.11088

Quirino, B. F., Normanly, J., & Amasino, R. M. (1999). Diverse range of gene activity during *Arabidopsis thaliana* leaf senescence includes pathogen-independent induction of defense-related genes. *Plant molecular biology*, 40, pp. 267-278. doi.org/10.1023/A:1006199932265

Qiu, K., Li, Z., Yang, Z., Chen, J., Wu, S., Zhu, X., Gao, S., Gao, J., Ren, G., Kuai, B., & Zhou, X. (2015). EIN3 and ORE1 accelerate degreening during ethylene-mediated leaf senescence by directly activating chlorophyll catabolic genes in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, 11(7), e1005399. doi.org/10.1371/journal.pgen.1005399

R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en <https://www.R-project.org/> [último acceso 6/5/2023]

Radford, P. J. (1967). Growth Analysis Formulae-Their Use and Abuse. *Crop Science* .7(3), pp. 171-175. <https://doi.org/10.2135/cropsci1967.0011183X000700030001x>

Rajcan, I., & Tollenaar, M. (1999). Source: sink ratio and leaf senescence in maize: II. Nitrogen metabolism during grain filling. *Field Crops Research*, 60(3), pp. 255-265. doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00143-9

Raper Jr, C. D., & Thomas, J. F. (1978). Photoperiodic alteration of dry matter partitioning and seed yield in soybeans. *Crop Science*, 18(4), pp. 654-656. doi.org/10.2135/cropsci1978.0011183X001800040032x

Rawson, H. M., Gifford, R. M., & Bremner, P. M. (1976). Carbon dioxide exchange in relation to sink demand in wheat. *Planta*, 132(1), pp. 19-23. doi.org/10.1007/BF00390326

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology*, 161(11), pp. 1189-1202. doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013

Reis Pimenta, M., Alves Silva, P., Camargo Mendes, G., Alves, J. R., Neves Caetano, H. D., Batista Machado, J. P., Bernardes Brustolini, O.J., Avelar Carpinetti, P., Paes Melo, B., Ferreira Silva, J.C., Leao Rosado, J., Silva Ferreira, M.S., Dal-Bianco, M., De Toledo Picoli, E.A., Lima Aragao, F.J., Oliverira Ramos, H.J., & Batista Fontes, E. P. (2016). The stress-induced soybean NAC transcription factor GmNAC81 plays a positive role in developmentally programmed leaf senescence. *Plant and Cell Physiology*, 57(5), pp. 1098-1114. doi.org/10.1093/pcp/pcw059

Ribeiro, J. E., ieterse, P. J., & Famba, S. I. (2017). Vegetative growth of *Amaranthus hybridus* and *Amaranthus tricolor* under different watering regimes in different seasons in southern Mozambique. *South African Journal of Plant and Soil*, 34(3), pp. 201-210. Disponible en <https://hdl.handle.net/10520/EJC-7bbcc31e7> [último accesos 6/5/2023]

Richmond, A. E., & Lang, A. (1957). Effect of kinetin on protein content and survival of detached *Xanthium* leaves. *Science*, 125(3249), pp. 650-651. DOI: 10.1126/science.125.3249. 650.b

Risi, J., & Galwey, N. W. (1991a). Effects of sowing date and sowing rate on plant development and grain yield of quinoa (*Chenopodium quinoa*) in a temperate environment. *The Journal of Agricultural Science*, 117(3), pp. 325-332. doi:10.1017/S002185960006706X

Risi, J., & Galwey, N. W. (1991b). Genotype x environment interaction in the Andean grain crop quinoa (*Chenopodium quinoa*) in temperate environments. *Plant breeding*, 107(2), pp. 141-147. doi.org/10.1111/j.1439-0523. 1991.tb00542.x

Rivelli, A. R., Gherbin, P., De Maria, S., & Pizza, S. (2008). Field evaluation of *Amaranthus* species for seed and biomass yields in southern Italy. *Italian Journal of Agronomy*, 3(3), pp. 225-229. doi.org/10.4081/ija.2008.225

Rodríguez, M. V., Mendiando, G. M., Cantoro, R., Auge, G. A., Luna, V., Masciarelli, O., & Benech-Arnold, R. L. (2012). Expression of seed dormancy in grain sorghum lines with

Referencias bibliográficas

contrasting pre-harvest sprouting behavior involves differential regulation of gibberellin metabolism genes. *Plant and Cell Physiology*, 53(1), pp. 64-80. doi.org/10.1093/pcp/pcr154

Roldán, M., & Zapater, J. M. M. (2008). Floración y su control ambiental. En Azcón Bieto, J., & Talón, M. (Eds) *Fundamentos de fisiología vegetal* (2 ed). McGraw-Hill Interamericana, España, pp. 499-517.

Rossato, L., Laine, P., & Ourry, A. (2001). Nitrogen storage and remobilization in *Brassica napus* L. during the growth cycle: nitrogen fluxes within the plant and changes in soluble protein patterns. *Journal of Experimental Botany*, 52(361), pp. 1655-1663. doi.org/10.1093/jexbot/52.361.1655

Rottet, S., Besagni, C., & Kessler, F. (2015). The role of plastoglobules in thylakoid lipid remodeling during plant development. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1847(9), pp. 889-899. doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.02.002

Rottet, S., Devillers, J., Glauser, G., Douet, V., Besagni, C., & Kessler, F. (2016). Identification of plastoglobules as a site of carotenoid cleavage. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1855. doi.org/10.3389/fpls.2016.01855

Ruan, J., Zhou, Y., Zhou, M., Yan, J., Khurshid, M., Weng, W., Chen, J., & Zhang, K. (2019). Jasmonic acid signaling pathway in plants. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2479. doi.org/10.3390/ijms20102479

Ruiz, K. B., Biondi, S., Martínez, E. A., Orsini, F., Antognoni, F., & Jacobsen, S. E. (2016). Quinoa a model crop for understanding salt tolerance mechanisms in halophytes. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 150(2), pp. 357-371. doi.org/10.1080/11263504.2015.1027317

Ruiz, R. A., & Bertero, H. D. (2008). Light interception and radiation use efficiency in temperate quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivars. *European Journal of Agronomy*, 29(2-3), pp. 144-152. doi.org/10.1016/j.eja.2008.05.003

Sadras, M., Ferreiro, M., Gutheim, F., & Kantolic, A.G. (2000). Desarrollo fenológico y su respuesta a temperatura y fotoperíodo. En Andrade, F.A., & Sadras, M. (Eds.), Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja (3 ed.) Instituto Nacional de tecnología agropecuaria-Universidad de Mar del Plata, Argentina, pp. 19-40.

Sage, R. F., & Pearcy, R. W. (1987). The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants: II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). *Plant physiology*, 84(3), pp. 959-963.

Sage, R. F., Pearcy, R. W., & Seemann, J. R. (1987). The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants: III. Leaf nitrogen effects on the activity of carboxylating enzymes in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). *Plant physiology*, 85(2), pp. 355-359. doi.org/10.1104/pp.85.2.355

Sakakibara, H. (2006). Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annual Revista Plant Biology*, 57, pp. 431-449. doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105231

Salvagiotti, F., Cassman, K. G., Specht, J. E., Walters, D. T., Weiss, A., & Dobermann, A. 2008. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research*. 108(1), pp. 1-13. doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001

Samet, J. S., & Sinclair, T. R. (1980). Leaf senescence and abscisic acid in leaves of field-grown soybean. *Plant Physiology*, 66(6), pp. 1164-1168. doi.org/10.1104/pp.66.6.1164

Sampson, D. R., & Burrows, V. D. (1972). Influence of photoperiod, short-day vernalization, and cold vernalization on days to heading in *Avena* species and cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 52(4), pp. 471-482. doi.org/10.4141/cjps72-077

Sanchez-Bragado, R., Molero, G., Reynolds, M. P., & Araus, J. L. (2014). Relative contribution of shoot and ear photosynthesis to grain filling in wheat under good agronomical conditions assessed by differential organ $\delta^{13}\text{C}$. *Journal of experimental botany*, 65(18), pp. 5401-5413. doi.org/10.1093/jxb/eru298

Referencias bibliográficas

Santachiara, G., Borrás, L., Salvagiotti, F., Gerde, J. A., & Rotundo, J. L. (2017). Relative importance of biological nitrogen fixation and mineral uptake in high yielding soybean cultivars. *Plant Soil*, 418, pp. 191-203. doi.org/10.1007/s11104-017-3279-9

Savin, R., & Nicolas, M. E. (1996). Effects of short periods of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars. *Functional Plant Biology*, 23(2), pp. 201-210. doi.org/10.1071/PP9960201

Sax, K. (1962). Aspects of aging in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 13(1), pp. 489-506. doi.org/10.1146/annurev.pp.13.060162.002421

Sayed, H. I., & Gadallah, A. M. (1983). Variation in dry matter and grain filling characteristics in wheat cultivars. *Field Crops Research*, 7, pp. 61-71. doi.org/10.1016/0378-4290(83)90007-2

Schoenlechner, R., Drausinger, J., Ottenschlaeger, V., Jurackova, K., & Berghofer, E. (2010). Functional properties of gluten-free pasta produced from amaranth, quinoa and buckwheat. *Plant foods for human nutrition*, 65(4), pp. 339-349. doi.org/10.1007/s11130-010-0194-0

Schwabe, W. W. (1959). Studies of long-day inhibition in short-day plants. *Journal of experimental botany*, 10(2), pp. 317-329. doi.org/10.1093/jxb/10.2.317

Schwabe, W. W. (1970a). The control of leaf senescence in *Kleinia articulata* by photoperiod. *Annals of Botany*, 34(1), pp. 43-55. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084361

Schwabe, W. W. (1970b). The control of leaf senescence in *Kleinia articulata* by photoperiod. *Annals of Botany*, 34(1), pp. 43-55. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084361

Schwartz, S. H., Tan, B. C., Gage, D. A., Zeevaart, J. A., & McCarty, D. R. (1997). Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science*, 276(5320), pp. 1872-1874. DOI: 10.1126/science.276.5320.1872

Semwal, V. K., & Khanna-Chopra, R. (2018). Reproductive sink enhanced drought induced senescence in wheat fertile line is associated with loss of antioxidant competence compared to

its CMS line. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24, pp. 591-604. doi.org/10.1007/s12298-018-0549-9

Serrago, R. A., Alzueta, I., Savin, R., & Slafer, G. A. (2013). Understanding grain yield responses to source–sink ratios during grain filling in wheat and barley under contrasting environments. *Field Crops Research*, 150, 42-51. doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.016

Serrano-Bueno, G., Sánchez de Medina Hernández, V., & Valverde, F. (2021). Photoperiodic Signaling and Senescence, an Ancient Solution to a Modern Problem? *Frontiers in Plant Science*, 12, 342. doi.org/10.3389/fpls.2021.634393

Servicio de Hidrografía Naval, Argentina. Disponible en <http://www.hidro.gov.ar/> [ultimo acceso 6/5/2023]

Setiyono, T. D., Weiss, A., Specht, J., Bastidas, A. M., Cassman, K. G., & Dobermann, A. (2007). Understanding and modeling the effect of temperature and daylength on soybean phenology under high-yield conditions. *Field crops research*, 100(2-3), pp. 257-271. doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.011

Setter, T. L., Brun, W. A., & Brenner, M. L. (1980). Stomatal closure and photosynthetic inhibition in soybean leaves induced by petiole girdling and pod removal. *Plant Physiology*, 65(5), pp. 884-887. doi.org/10.1104/pp.65.5.884

Setter, T. L., Brun, W. A., & Brenner, M. L. (1981). Abscisic acid translocation and metabolism in soybeans following depodding and petiole girdling treatments. *Plant Physiology*, 67(4), pp. 774-779. doi.org/10.1104/pp.67.4.774

Shang, Q., Wang, Y., Tang, H., Sui, N., Zhang, X., & Wang, F. (2021). Genetic, hormonal, and environmental control of tillering in wheat. *The Crop Journal*, 9(5), pp. 986-991. doi.org/10.1016/j.cj.2021.03.002

Shanmugasundaram, S. (1979). Variation in the photoperiodic response on several characters in soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. *Euphytica*, 28, pp. 495-507. doi.org/10.1007/BF00056610

Referencias bibliográficas

Simpson, R. J., Lambers, H., & Dalling, M. J. (1983). Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.) IV. Development of a quantitative model of the translocation of nitrogen to the grain. *Plant Physiology*, 71(1), pp. 7-14. doi.org/10.1104/pp.71.1.7

Sinclair, T.R., & De Wit, C.R. (1975). Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science*. 189(4202), pp. 565-567. <https://doi.org/10.1126/science.189.4202.565>

Sinclair, T. R., & De Wit, C. T. (1976). Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. *Agronomy Journal*, 68(2), pp. 319-324. doi.org/10.2134/agronj1976.00021962006800020021x

Slafer, G. A., & Miralles, D. J. (1992). Green area duration during the grain filling period of an Argentine wheat cultivar as influenced by sowing date, temperature and sink strength. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168(3), pp. 191-200. doi.org/10.1111/j.1439-037X.1992.tb00998.x

Slafer, G. A., & Savin, R. (1994). Source—sink relationships and grain mass at different positions within the spike in wheat. *Field Crops Research*, 37(1), pp. 39-49. doi.org/10.1016/0378-4290(94)90080-9

Slafer, G. A., & Rawson, H. M. (1995). Photoperiod x temperature interactions in contrasting wheat genotypes: time to heading and final leaf number. *Field Crops Research*, 44(2-3), pp. 73-83. doi.org/10.1016/0378-4290(95)00077-1

Slafer, G. A., & Rawson, H. M. (1996). Responses to photoperiod change with phenophase and temperature during wheat development. *Field Crops Research*, 46(1-3), pp. 1-13. doi.org/10.1016/0378-4290(95)00081-X

Slafer, G. A., Savin, R., & Sadras, V. O. (2014). Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. *Field Crops Research*, 157, pp. 71-83. doi.org/10.1016/j.fcr.2013.12.004

Slafer, G. A., Kantolic, A. G., Appendino, M. L., Tranquilli, G., Miralles, D. J., & Savin, R. (2015). Genetic and environmental effects on crop development determining adaptation and yield. *En*

Crop *physiology* (2 ed.). Academic Press, Estados Unidos, pp. 285-319. doi.org/10.1016/B978-0-12-417104-6.00012-1

Smith, V. A., Gaskin, P., & MacMillan, J. (1990). Partial purification and characterization of the gibberellin A20 3 β -hydroxylase from seeds of *Phaseolus vulgaris*. *Plant physiology*, 94(3), pp. 1390-1401. doi.org/10.1104/pp.94.3.1390

Sofield, I., Evans, L. T., Cook, M. G., & Wardlaw, I. F. (1977). Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Functional Plant Biology*, 4(5), pp. 785-797. doi.org/10.1071/PP9770785

Song, Y. H., Shim, J. S., Kinmonth-Schultz, H. A., & Imaizumi, T. (2015). Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves. *Annual review of plant biology*, 66, pp. 441-464. doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-115555

Sosa-Zuniga, V., Brito, V., Fuentes, F., & Steinfort, U. (2017). Phenological growth stages of quinoa (*Chenopodium quinoa*) based on the BBCH scale. *Annals of Applied Biology*, 171(1), pp. 117-124. doi.org/10.1111/aab.12358

Srivalli, S., & Khanna-Chopra, R. (2009). Delayed wheat flag leaf senescence due to removal of spikelets is associated with increased activities of leaf antioxidant enzymes, reduced glutathione/oxidized glutathione ratio and oxidative damage to mitochondrial proteins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(8), pp. 663-670. doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.03.015

Steffensen, S. K., Rinnan, Å., Mortensen, A. G., Laursen, B., de Troiani, R. M., Noellemeyer, E.J., Janovska, D., Dusek, K., Délano-Frier, J., Taberner, A., Christophersen, C., & Fomsgaard, I. S. (2011). Variations in the polyphenol content of seeds of field grown *Amaranthus* genotypes. *Food Chemistry*, 129(1), pp. 131-138. 10.1016/j.foodchem.2011.04.044

Stepanova, A. N., Robertson-Hoyt, J., Yun, J., Benavente, L. M., Xie, D. Y., Doležal, K., Schlereth, A., Jugens, G & Alonso, J. M. (2008). TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell*, 133(1), pp. 177-191. doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.047

Referencias bibliográficas

Suárez-López, P., Wheatley, K., Robson, F., Onouchi, H., Valverde, F., & Coupland, G. (2001). CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 410(6832), pp. 1116-1120. doi.org/10.1038/35074138

Suge, H., & Iwamura, H. (1993). Effect of cytokinin and anticytokinin on the tillering of barley. *Japanese Journal of Crop Science*, 62(4), pp. 595-600. doi.org/10.1626/jcs.62.595

Summerfield, R.J., Asamadu, H., Ellis, R.H., & Qi, A. (1998). Characterization of the photoperiodic response of post-flowering development in maturity isolines of soybean (*Glycine max* L. Merr.) "Clark". *Annals of Botany*, 82(6), pp. 765-771. doi.org/10.1006/anbo.1998.0755

Svačinová, J., Novák, O., Plačková, L., Lenobel, R., Holík, J., Strnad, M., & Doležal, K. (2012). A new approach for cytokinin isolation from *Arabidopsis* tissues using miniaturized purification: pipette tip solid-phase extraction. *Plant methods*, 8(1), pp. 1-14. doi.org/10.1186/1746-4811-8-17

Tabuchi, M., Abiko, T., & Yamaya, T. (2007). Assimilation of ammonium ions and reutilization of nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of experimental botany*, 58(9), pp. 2319-2327. doi.org/10.1093/jxb/erm016

Tadeo, F.R., & Gomez-Cadenas, A. (2008). Fisiología de las plantas y el estrés. En Azcon-Bieto, J. & Talon, M. (Eds.), *Fundamento de filosofía vegetal* (2 ed.). McGraw-Hill Interamericana, España, pp. 577-597.

Taiz, L., & Wigge, P.A. (2015). Flower control and floral development. En Taiz, L., Zeigel, E., Moller, I.M. & Murphy, A. (Eds.), *Plant physiology and development* (6 ed.) Oxford University Press, Reino Unido, pp. 591- 623.

Taiz, L. (2015). Plant senescence and Cell death. En Taiz, L., Zeigel, E., Moller, I.M. & Murphy, A. (Eds.), *Plant physiology and development* (6 ed.) Oxford University Press, Reino Unido, pp. 665-692.

Takeda, G., & Udagawa, T. (1976). Ecological Studies on the Photosynthesis of Winter Cereals: III. Changes of the photosynthetic ability of various organs with growth. *Japanese Journal of Crop Science*, 45(2), pp. 357-368. doi.org/10.1626/jcs.45.357

Tamagno, S., Balboa, G. R., Assefa, Y., Kovács, P., Casteel, S. N., Salvagiotti, F., & Ciampitti, I. A. (2017). Nutrient partitioning and stoichiometry in soybean: A synthesis-analysis. *Field Crops Res.* 200, pp. 18-27. doi.org/10.1016/j.fcr.2016.09.019

Tamaki, S., Matsuo, S., Wong, H. L., Yokoi, S., & Shimamoto, K. (2007). Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*, 316(5827), pp.1033-1036.

Tambussi, E. A., Bort, J., Guiamet, J. J., Nogués, S., & Araus, J. L. (2007). The photosynthetic role of ears in C3 cereals: metabolism, water use efficiency and contribution to grain yield. *Critical Reviews in PlantSciences*, 26(1), pp. 1-16. doi.org/10.1080/07352680601147901

Tambussi, E. A., Maydup, M. L., Carrión, C. A., Guiamet, J. J., & Araus, J. L. (2021). Ear photosynthesis in C3 cereals and its contribution to grain yield: methodologies, controversies, and perspectives. *Journal of Experimental Botany*, 72(11), pp. 3956-3970. doi.org/10.1093/jxb/erab125

Tapia, M., Alandia, S., Cardozo, A., Gandarillas, H., Mujica, A., Ortiz, R., Otazu, V., Rea, J., & Zanabria, E., (1979). *Quínoa y Canihua. Cultivos Andinos. Serie libros y materiales educativos 49*. IICA, Colombia, pp. 227.

Tausz-Posch, S., Dempsey, R. W., Seneweera, S., Norton, R. M., Fitzgerald, G., & Tausz, M. (2015). Does a freely tillering wheat cultivar benefit more from elevated CO₂ than a restricted tillering cultivar in a water-limited environment? *European Journal of Agronomy*, 64, pp. 21-28. doi.org/10.1016/j.eja.2014.12.009

Taylor, L., Nunes-Nesi, A., Parsley, K., Leiss, A., Leach, G., Coates, S., Wingler, A., Fernie, A., R., & Hibberd, J. M. (2010). Cytosolic pyruvate, orthophosphate dikinase functions in nitrogen remobilization during leaf senescence and limits individual seed growth and nitrogen content. *The Plant Journal*, 62(4), pp. 641-652. doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04179.x

Thomas, M. D., & Hill, G. R. (1937). Relation of sulphur dioxide in the atmosphere to photosynthesis and respiration of alfalfa. *Plant physiology*, 12(2), pp. 285-307. doi: 10.1104/pp.12.2.285

Referencias bibliográficas

Thomas, H., & Howarth, C. J. (2000). Five ways to stay green. *Journal of experimental botany*, 51(suppl 1), pp. 329-337. doi.org/10.1093/jexbot/51.suppl_1.329

Thomas, J. F., & Raper Jr, C. D. (1976). Photoperiodic Control of Seed Filling for Soybeans. *Crop Science*, 16(5), pp. 667-672. doi.org/10.2135/cropsci1976.0011183X001600050017x

Thomas, J. F., Raper Jr, C. D. (1983). Photoperiod and temperature regulation of floral initiation and anthesis in soya bean. *Annals of Botany*, 51(4), pp. 481-489. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086493

Thomas, H., & Smart, C. M. (1993). Crops that stay green. *Annals of applied Biology*, 123(1), pp. 193-219. doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04086.x

Thomas, H., & Stoddart, J. L. (1980). Leaf senescence. *Annual review of plant physiology*, 31(1), pp. 83-111. doi.org/10.1146/annurev.pp.31.060180.000503

Thomas, B., & Vince Prue, D. (1997a). Introduction. En Thomas, B., & Vince Prue, D. (Eds.), *Photoperiodism in Plant* (2 ed.). Academic Press, Reino Unido, pp. XI- XV.

Thomas, B., & Vince Prue, D. (1997b). Some general principles. En Thomas, B., & Vince Prue, D. (Eds.), *Photoperiodism in Plant* (2 ed.). Academic Press, Reino Unido, pp. 3-28.

Thomas, B., & Vince Prue, D. (1997c). Photoperiodic Photoreceptors. En Thomas, B., & Vince Prue, D. (Eds.), *Photoperiodism in Plant* (2 ed.). Academic Press, Reino Unido, pp. 63-84.

Thorne, G. N., Ford, M. A., & Watson, D. J. (1968). Growth, development, and yield of spring wheat in artificial climates. *Annals of Botany*, 32(2), pp. 425-446. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084219

Tovar, J. C., Quillatupa, C., Callen, S. T., Castillo, S. E., Pearson, P., Shamin, A., Schuhl, H., Fahlgren, N., & Gehan, M. A. (2020). Heating quinoa shoots results in yield loss by inhibiting fruit production and delaying maturity. *The Plant Journal*, 102(5), pp. 1058-1073. doi.org/10.1111/tpj.14699

Tovignan, T. K., Fonceka, D., Ndoye, I., Cisse, N., & Luquet, D. (2016). The sowing date and post-flowering water status affect the sugar and grain production of photoperiodic, sweet sorghum through the regulation of sink size and leaf area dynamics. *Field crops research*, 192, pp. 67-77. doi.org/10.1016/j.fcr.2016.04.015

Trevaskis, B. (2010). The central role of the VERNALIZATION 1 gene in the vernalization response of cereals. *Functional Plant Biology*, 37(6), pp. 479-487. doi.org/10.1071/FP10056

Turck, F., Fornara, F., & Coupland, G. (2008). Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. *Annual Review of Plant Biology*, 59, pp. 573-594. doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092755

Turner, A., Beales, J., Faure, S., Dunford, R. P., & Laurie, D. A. (2005). The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley. *Science*, 310(5750), pp. 1031-1034. DOI: 10.1126/science.1117619

Ueda, J., & Kato, J. (1980). Isolation and identification of a senescence-promoting substance from wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Plant Physiology*, 66(2), pp.246-249. /doi.org/10.1104/pp.66.2.246

United State Department of Agriculture (USDA). (2021). Food Data Central. Disponible en <https://fdc.nal.usda.gov> [Último acceso: 6/5/2023].

Uprety, D. C., & Sirohi, G. S. (1987). Comparative study on the effect of water stress on the photosynthesis and water relations of triticale, rye and wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 159(5), pp. 349-355. doi.org/10.1111/j.1439-037X.1987.tb00113.x

Valenzuela-Soto, E. M., & Muñoz-Clares, R. A. (1994). Purification and properties of betaine aldehyde dehydrogenase extracted from detached leaves of *Amaranthus hypochondriacus* L. subjected to water deficit. *Journal of plant physiology*, 143(2), pp. 145-152. 10.1016/S0176-1617(11)81678-0

Referencias bibliográficas

van Oosterom, E. J., Chapman, S. C., Borrell, A. K., Broad, I. J., & Hammer, G. L. (2010). Functional dynamics of the nitrogen balance of sorghum. II. Grain filling period. *Field Crops Research*, 115(1), pp. 29-38. doi.org/10.1016/j.fcr.2009.09.019

van Staden, J., & Davey, J. E. (1979). The synthesis, transport and metabolism of endogenous cytokinins. *Plant, Cell & Environment*, 2(2), pp. 93-106. doi.org/10.1111/j.1365-3040.1979.tb00780.x

van Wijk, K. J. (2015). Protein maturation and proteolysis in plant plastids, mitochondria, and peroxisomes. *Annual review of plant biology*, 66, pp. 75-111. doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-115547

van der Graaff, E., Schwacke, R., Schneider, A., Desimone, M., Flugge, U. I., & Kunze, R. (2006). Transcription analysis of Arabidopsis membrane transporters and hormone pathways during developmental and induced leaf senescence. *Plant physiology*, 141(2), pp. 776-792. doi.org/10.1104/pp.106.079293

Venkat, A., & Muneer, S. (2022). Role of circadian rhythms in major plant metabolic and signaling pathways. *Frontiers in Plant Science*, 13. doi: 10.3389/fpls.2022.836244

Wang, X., & Below, F. E. (1996). Cytokinins in enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. *Crop Science*, 36(1), pp. 121-126. doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600010022x

Wang, S., & Blumwald, E. (2014). Stress-induced chloroplast degradation in Arabidopsis is regulated via a process independent of autophagy and senescence-associated vacuoles. *The Plant Cell*, 26(12), pp. 4875-4888. doi.org/10.1105/tpc.114.133116

Wang, Y., Meng, Y. L., Ishikawa, H., Hibino, T., Tanaka, Y., Nii, N., & Takabe, T. (1999). Photosynthetic adaptation to salt stress in three-color leaves of a C4 plant *Amaranthus tricolor*. *Plant and cell physiology*, 40(7), pp. 668-674. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029591

Wang, K. L. C., Li, H., & Ecker, J. R. (2002). Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The plant cell*, 14(suppl_1), S131-S151. doi.org/10.1105/tpc.001768

Wang, T., Zhou, D., Wang, P., & Zhang, H. (2006). Size-dependent reproductive effort in *Amaranthus retroflexus*: the influence of planting density and sowing date. *Botany*, *84*(3), pp. 485-492. doi.org/10.1139/b06-011

Wang, C., Wu, T., Wu, C., Jiang, B., Sun, S., Hou, W., & Han, T. (2015). Changes in photo-thermal sensitivity of widely grown Chinese soybean cultivars due to a century of genetic improvement. *Plant Breeding*, *134*(1), 94-104. https://doi.org/10.1111/pbr.12226

Warembourg, F. R., Montange, D., & Bardin, R. (1982). The simultaneous use of $^{14}\text{CO}_2$ and $^{15}\text{N}_2$ labelling techniques to study the carbon and nitrogen economy of legumes grown under natural conditions. *Physiologia Plantarum*, *56*(1), pp. 46-55. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1982.tb04898.x

Washburn, C. F., & Thomas, J. F. (2000). Reversion of flowering in *Glycine max* (Fabaceae). *American Journal of botany* *87*(10), pp. 1425-1438. doi.org/10.2307/2656869

Wasternack, C., & Hause, B. (2013). Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Annals of botany*, *111*(6), pp. 1021-1058. doi.org/10.1093/aob/mct067

Way, D. A., & Montgomery, R. A. (2015). Photoperiod constraints on tree phenology, performance and migration in a warming world. *Plant, cell & environment*, *38*(9), pp. 1725-1736. doi.org/10.1111/pce.12431

Webb, A. A., Seki, M., Satake, A., & Caldana, C. (2019). Continuous dynamic adjustment of the plant circadian oscillator, *Nature communications*, *10*(1), 550. doi.org/10.1038/s41467-019-08398-5

Weidhase, R. A., Kramell, H. M., Lehmann, J., Liebisch, H. W., Lerbs, W., & Parthier, B. (1987). Methyljasmonate-induced changes in the polypeptide pattern of senescing barley leaf segments. *Plant Science*, *51*(2-3), pp. 177-186. doi.org/10.1016/0168-9452(87)90191-9

Referencias bibliográficas

Welch, R. W., Yong, Y. Y., & HAYWARD, M. V. (1980). The distribution of protein and non-structural carbohydrate in five oat varieties during plant growth and grain development. *Journal of Experimental Botany*, 31(4), pp. 1131-1137. doi.org/10.1093/jxb/31.4.1131

Welch, R. W. (2006) Cereal Grains. En Caballero, B. Allen, L., & Prentice, A. *The Encyclopedia of Human Nutrition* (2ed). Academic Press, Estados Unidos, pp. 346-357.

Welch, R. W. (2011). Nutrient composition and nutritional quality of oats and comparisons with other cereals. En Webster, F.H. & Wood, P.J. (Eds.). *Oats: Chemistry and technology* (2^o ed). pp. 95-107. Woodhead Publishing and AACC International Press. doi.org/10.1094/9781891127649.006

Wells, R. (1991). Soybean growth response to plant density: Relationships among canopy photosynthesis, leaf area, and light interception. *Crop Science*, 31(3), pp. 755-761. doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100030044x

Weng, X. Y., Xu, H. X., & Jiang, D. A. (2005). Characteristics of gas exchange, chlorophyll fluorescence and expression of key enzymes in photosynthesis during leaf senescence in rice plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(5), pp. 560-566. doi.org/10.1111/j.1744-7909.2005.00098.x

Werner, T., & Schmölling, T. (2009). Cytokinin action in plant development. *Current opinion in plant biology*, 12(5), pp. 527-538. doi.org/10.1016/j.pbi.2009.07.002

Westgate, M. E., & Peterson, C. M. (1993). Flower and pod development in water-deficient soybeans (*Glycine max* L. Merr.). *Journal of Experimental Botany*, 44(1), pp. 109-117. doi.org/10.1093/jxb/44.1.109

Whitehead, W. F., Carter, J., & Singh, B. P. (2002). Effect of planting date on vegetable amaranth leaf yield, plant height, and gas exchange. *Hort Science*, 37(5), pp. 773-777. doi.org/10.21273/HORTSCI.37.5.773

Whittal, A., Kaviani, M., Graf, R., Humphreys, G., & Navabi, A. (2018). Allelic variation of vernalization and photoperiod response genes in a diverse set of North American high latitude winter wheat genotypes. *PLoS one*, 13(8), e0203068. doi.org/10.1371/journal.pone.0203068

Whyte, P., & Luckwill, L. C. (1966). A sensitive bioassay for gibberellins based on retardation of leaf senescence in *Rumex obtusifolius* (L.). *Nature*, 210, pp.1360-1360. doi: 10.1038/2101360a0

Wilson, J. W. (1981). Analysis of growth, photosynthesis and light interception for single plants and stands. *Annals of Botany*, 48(4), pp. 507-512. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086154

Wilson, J. B. (1997). An evolutionary perspective on the 'death hormone' hypothesis in plants. *Physiologia Plantarum*, 99(3), pp. 511-516. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb00567.x

Wittenbach, V. A. (1979). Ribulose biphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiology*, 64(5), pp. 884-887. doi.org/10.1104/pp.64.5.884

Wittenbach, V. A. (1983). Effect of pod removal on leaf photosynthesis and soluble protein composition of field-grown soybeans. *Plant Physiology*, 73(1), pp. 121-124. doi.org/10.1104/pp.73.1.121

Wittenbach, V. A., Lin, W., & Hebert, R. R. (1982). Vacuolar localization of proteases and degradation of chloroplasts in mesophyll protoplasts from senescing primary wheat leaves. *Plant Physiology*, 69(1), pp. 98-102. doi.org/10.1104/pp.69.1.98

Wittenbach, V. A., Lin, W., & Hebert, R. R. (1982). Vacuolar localization of proteases and degradation of chloroplasts in mesophyll protoplasts from senescing primary wheat leaves. *Plant Physiology*, 69(1), pp. 98-102. doi.org/10.1104/pp.69.1.98

Woldemariam, M. G., Onkokesung, N., Baldwin, I. T., & Galis, I. (2012). Jasmonoyl-l-isoleucine hydrolase 1 (JIH1) regulates jasmonoyl-l-isoleucine levels and attenuates plant defenses against herbivores. *The Plant Journal*, 72(5), pp. 758-767. doi.org/10.1111/j.1365-3113.2012.05117.x

Referencias bibliográficas

Woo, H. R., Kim, H. J., Lim, P. O., & Nam, H. G. (2019). Leaf senescence: systems and dynamics aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 70, pp. 347-376. doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-095859

Wood, L. J., Murray, B. J., Okatan, Y., & Nooden, L. D. (1986). Effect of petiole phloem disruption on starch and mineral distribution in senescing soybean leaves. *American journal of botany*, 73(10), pp. 1377-1383. doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb10882.x

Wu, T. T., Li, J. Y., Wu, C. X., Shi, S. U. N., Mao, T. T., Jiang, B. J., Hou, W. S., & Han, T. F. (2015). Analysis of the independent and interactive photothermal effects on soybean flowering. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(4), pp. 622-632. doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60856-X

Wu, H., Xiang, J., Zhang, Y., Zhang, Y., Peng, S., Chen, H., & Zhu, D. (2018). Effects of post-anthesis nitrogen uptake and translocation on photosynthetic production and rice yield. *Scientific Reports*, 8(1), 12891. doi.org/10.1038/s41598-018-31267-y

Wych, R. D., McGraw, R. L., & Stuthman, D. D. (1982). Genotype× Year Interaction for Length and Rate of Grain Filling in Oats. *Crop Science*, 22(5), pp. 1025-1028. doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200050031x

Wybouw, B., & De Rybel, B. (2019). Cytokinin—a developing story. *Trends in plant science*, 24(2), pp.177-185. doi.org/10.1016/j.tplants.2018.10.012

Xia, G., Li-jun, Z., Feng-hai, L., Zhi-Bin, C., Che, W., Yun-Cong, Y., Zhen-hai, H., Jie, Z., & Zhen-Sheng, S. (2010). Relationship between jasmonic acid accumulation and senescence in drought-stress. *African J Agric Res*, 5(15), pp. 1978-1983. DOI: 10.5897/AJAR10.207

Xiao, X. M., Xu, Y. M., Zeng, Z. X., Tan, X. L., Liu, Z. L., Chen, J. W., Su, X., G., & Chen, J. Y. (2019). Activation of the transcription of BrGA20ox3 by a BrTCP21 transcription factor is associated with gibberellin-delayed leaf senescence in chinese flowering cabbage during storage. *International journal of molecular sciences*, 20(16), 3860.

Xie, Z. P., Staehelin, C., Wiemken, A., & Boller, T. (1996). Ethylene responsiveness of soybean cultivars characterized by leaf senescence, chitinase induction and nodulation. *Journal of Plant Physiology*, 149(6), pp. 690-694. doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80093-9

Xu, F., Meng, T., Li, P., Yu, Y., Cui, Y., Wang, Y., Gong, Q., & Wang, N. N. (2011). A soybean dual-specificity kinase, GmSARK, and its Arabidopsis homolog, AtSARK, regulate leaf senescence through synergistic actions of auxin and ethylene. *Plant physiology*, 157(4), pp. 2131-2153. doi.org/10.1104/pp.111.182899

Yamaguchi, N. (2021). LEAFY, a pioneer transcription factor in plants: A mini-review. *Frontiers in Plant Science*, 12, 701406. doi.org/10.3389/fpls.2021.701406

Yamori, W., Hikosaka, K., & Way, D. A. (2014). Temperature response of photosynthesis in C₃, C₄, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. *Photosynthesis research*, 119(1), pp. 101-117. doi.org/10.1007/s11120-013-9874-6

Yang, F. P., Zhang, X. K., Xia, X. C., Laurie, D. A., Yang, W. X., & He, Z. H. (2009). Distribution of the photoperiod insensitive Ppd-D1a allele in Chinese wheat cultivars. *Euphytica*, 165, 445-452. doi.org/10.1007/s10681-008-9745-y

Yang, W., Wu, T., Zhang, X., Song, W., Xu, C., Sun, S., Hou, W., Jiang, B., Han, T., & Wu, C. (2019). Critical photoperiod measurement of soybean genotypes in different maturity groups. *Crop Science*, 59(5), pp. 2055-2061. doi.org/10.2135/cropsci2019.03.0170

Yano, M., Katayose, Y., Ashikari, M., Yamanouchi, U., Monna, L., Fuse, T., Baba, T., Yamamoto, K., Umehara, Y., Nigamara, Y., & Sasaki, T. (2000). Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene CONSTANS. *The Plant Cell*, 12(12), pp. 2473-2483. doi.org/10.1105/tpc.12.12.2473

Ye Z-P, Ling Y, Yu Q, Duan H-L, Kang H-J, Huang G-M, Duan S-H, Chen X-M, Liu Y-G & Zhou S-X. (2020). Quantifying Light Response of Leaf-Scale Water-Use Efficiency and Its Interrelationships with Photosynthesis and Stomatal Conductance in C₃ and C₄ Species. *Frontier Plant Science*. 11:374. doi: 10.3389/fpls.2020.00374

Referencias bibliográficas

Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14(6), pp. 415-421.

Żelisko, A., & Jackowski, G. (2004). Senescence-dependent degradation of Lhcb3 is mediated by a thylakoid membrane-bound protease. *Journal of plant physiology*, 161(10), pp. 1157-1170. doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.006

Zhai, H., Lü, S., Wang, Y., Chen, X., Ren, H., Yang, Cheng, W., Zong, C., Gu, H., Qiu, H, Wu, H., Zhang, H., & Xia, Z. (2014). Allelic variations at four major maturity E genes and transcriptional abundance of the E1 gene are associated with flowering time and maturity of soybean cultivars. *PloS one*, 9(5), e97636. doi.org/10.1371/journal.pone.0097636

Zhang, L., Wang, R., & Hesketh, J. D. (2001). Effects of photoperiod on growth and development of soybean floral bud in different maturity. *Agronomy Journal*, 93(4), pp. 944-948. doi.org/10.2134/agronj2001.934944x

Zhang, L. X., Kyei-Boahen, S., Zhang, J., Zhang, M. H., Freeland, T. B., Watson Jr, C. E., Liu, X. (2007). Modifications of optimum adaptation zones for soybean maturity groups in the USA. *Crop Management*, 6(1), pp. 1-11. doi.org/10.1094/CM-2007-0927-01-RS

Zhang, K., Halitschke, R., Yin, C., Liu, C. J., & Gan, S. S. (2013). Salicylic acid 3-hydroxylase regulates Arabidopsis leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(36), pp. 14807-14812. doi.org/10.1073/pnas.1302702110

Zhang, Y., Liu, Z., Wang, X., Wang, J., Fan, K., Li, Z., & Lin, W. (2018). DELLA proteins negatively regulate dark-induced senescence and chlorophyll degradation in Arabidopsis through interaction with the transcription factor WRKY6. *Plant Cell Reports*, 37, pp. 981-992. doi.org/10.1007/s00299-018-2282-9

Zhang, H., Zhang, L., Wu, S., Chen, Y., Yu, D., & Chen, L. (2021). AtWRKY75 positively regulates age-triggered leaf senescence through gibberellin pathway. *Plant diversity*, 43(4), pp. 331-340. doi.org/10.1016/j.pld.2020.10.002

Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual review of plant biology*, 61, 49-64. doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112308

Zhao, J., Huang, X., Ouyang, X., Chen, W., Du, A., Zhu, L., Wang, S., Deng, X., & Li, S. (2012). OsELF3-1, an ortholog of Arabidopsis early flowering 3, regulates rice circadian rhythm and photoperiodic flowering. *PLoS ONE* 7(8), e43705. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043705

Zhao, B., Ma, B. L., Hu, Y., & Liu, J. (2021). Source–sink adjustment: A mechanistic understanding of the timing and severity of drought stress on photosynthesis and grain yields of two contrasting oat (*Avena sativa* L.) genotypes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(1), pp. 263-276. doi.org/10.1007/s00344-020-10093-5

Zheng, T., Sun, J., Zhou, S., Chen, S., Lu, J., Cui, S., Tian, Y., Zhang, H., Cai, M., Zhu, S., Wu, M., Wang, Y., Jian, L., Zhai, H., Wang, H., & Wan, J. (2019). Post-transcriptional regulation of Ghd7 protein stability by phytochrome and Os GI in photoperiodic control of flowering in rice. *New Phytologist*, 224(1), pp. 306-320. doi.org/10.1111/nph.16010

Zhou, S., Zhu, S., Cui, S., Hou, H., Wu, H., Hao, B., Cai, L., Xu, Z., Liu, L., Jiang, L., Wang, H., & Wan, J. (2020). Transcriptional and post-transcriptional regulation of heading date in rice. *New Phytologist*, 230(3), pp. 943-956. doi.org/10.1111/nph.17158

Zhuang, X., & Jiang, L. (2019). Chloroplast degradation: multiple routes into the vacuole. *Frontiers in plant science*, 10, 359. doi.org/10.3389/fpls.2019.00359

Zong, W., Ren, D., Huang, M., Sun, K., Feng, J., Zhao, J., Xiao, D., Xie, W., Liu, S., Zhang, H., Qiu, R., Tang, W., Yang, R., Chen, H., Xie, X., Chen, L., Liu, Y., & Guo, J. (2021). Strong photoperiod sensitivity is controlled by cooperation and competition among Hd1, Ghd7 and DTH8 in rice heading. *New Phytologist*, 229(3), pp. 1635-1649. doi.org/10.1111/nph.16946

Zubillaga, M. F., Camina, R., Orioli, G. A., & Barrio, D. A. (2019). Response of *Amaranthus cruentus* cv. Mexicano to nitrogen fertilization under irrigation in the temperate, semiarid climate of North Patagonia, Argentina. *Journal of plant nutrition*, 42(2), pp. 99-110. doi.org/10.1080/01904167.2018.1549674

Referencias bibliográficas

Zürcher, E., & Müller, B. (2016). Cytokinin synthesis, signaling, and function-advances and new insights. *International review of cell and molecular biology*, 324, pp. 1-38. doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105231

Zwack, P. J., & Rashotte, A. M. (2013). Cytokinin inhibition of leaf senescence. *Plant signaling & behavior*, 8(7), e24737. doi.org/10.4161/psb.24737

Zwack, P. J., De Clercq, I., Howton, T. C., Hallmark, H. T., Hurny, A., Keshishian, E. A., Parish, A.M., Benkova, E., Shahid Mukhtar, M., Van Breusegem, F., & Rashotte, A. M. (2016). Cytokinin response factor 6 represses cytokinin-associated genes during oxidative stress. *Plant Physiology*, 172(2), pp. 1249-1258. doi.org/10.1104/pp.16.00415

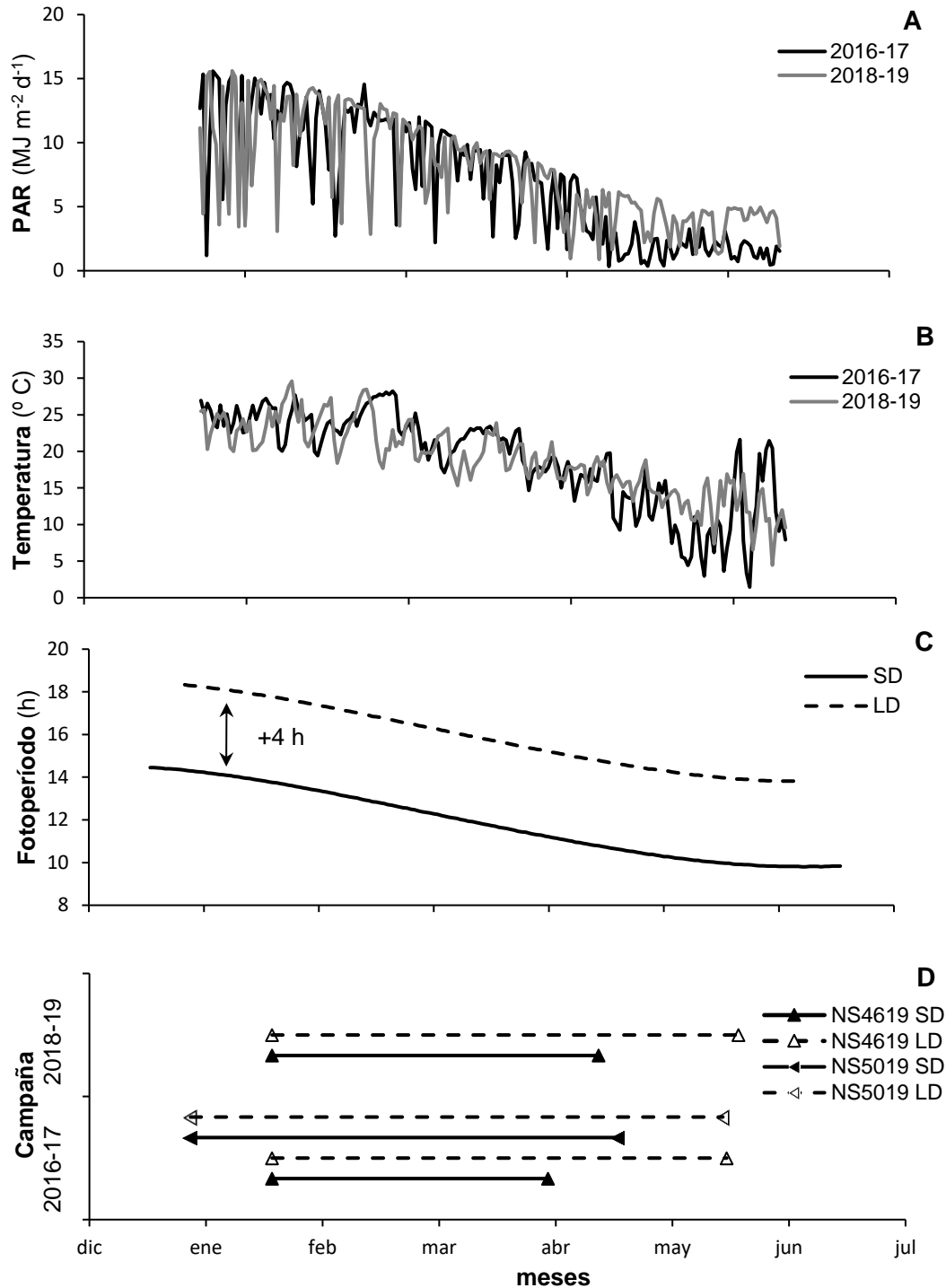


Figura suplementaria 2.1. Radiación fotosintéticamente activa diaria (PAR) (A), temperatura (B), fotoperíodo (C) y duración del estadio reproductivo (R1-R8) (D) en plantas de soja cv. NS 4619 y NS 5019 expuestas a tratamientos de fotoperíodo de día corto (SD) y largos (LD) en campaña 2016-17 y 2018-19. PAR diario se calculó a partir de la conversión de radiación global incidente diaria por el factor 0.48 (Gosse et al. 1986). La doble flecha (↕) indica diferencia en horas entre SD y LD. R1 y R8 corresponden a antesis y madurez de cosecha respectivamente según Fehr & Caviness (1977).

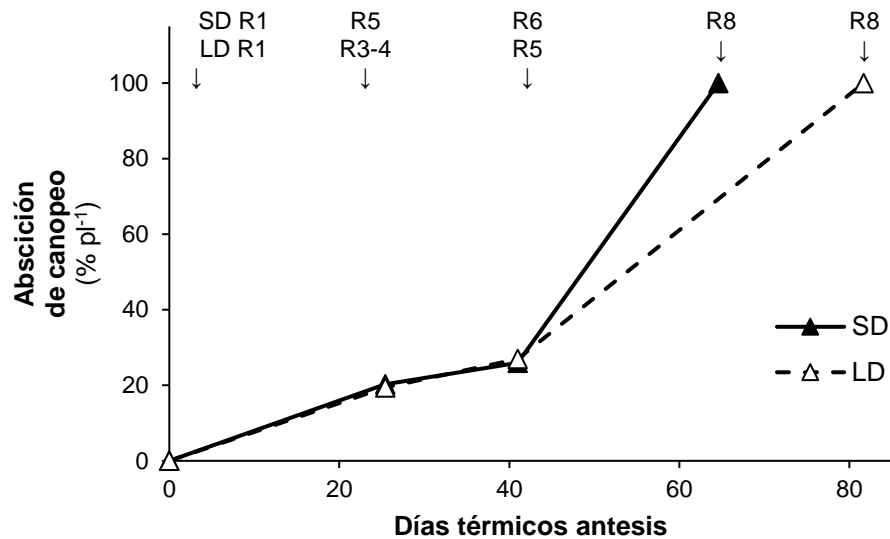


Figura suplementaria 2.2. “Abscisión” del canopeo en planta de soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en campaña 2018-19. En la parte superior del gráfico la flecha (↓) indican los estadios fenológicos R1 - R8 según Fehr & Caviness (1977) en SD y LD.

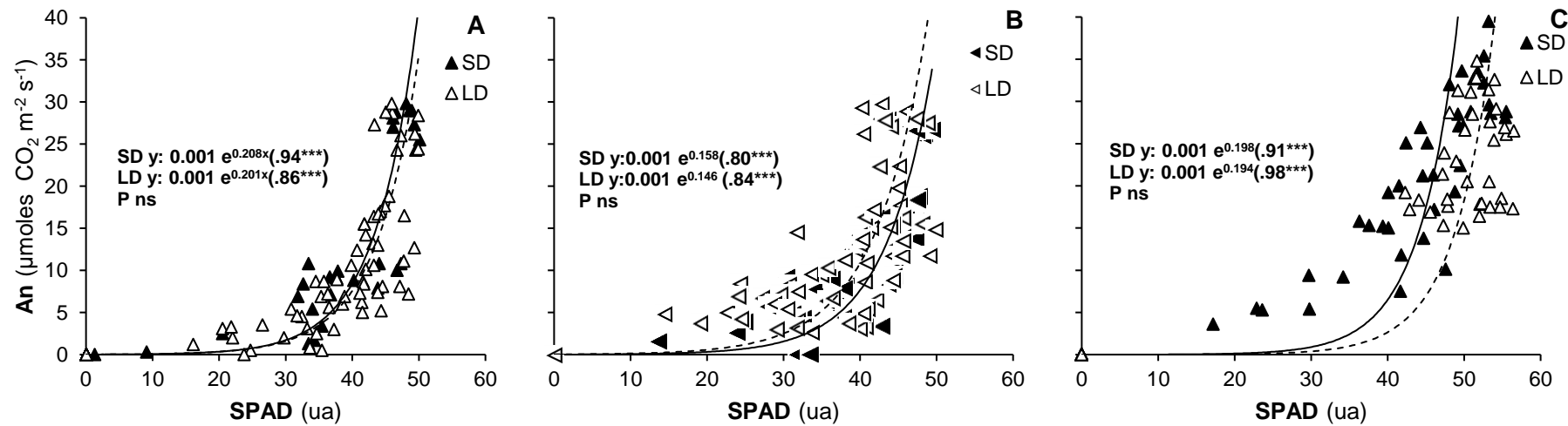


Figura suplementaria 2.3. Relación del contenido de clorofilas foliares (indicada a partir del índice de "verdor" SPAD) y asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en plantas de soja cv. NS4619 y NS5019 expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en campaña 2016-17 y 2018-19. (A) y (B) soja NS4619 y NS5019 en campaña 2016-17 respectivamente, (C) NS4619 en campaña 2018-19. Las curvas de regresión ajustada están representadas con línea continua para SD y línea discontinua para LD. Se representan las ecuaciones de las curvas de regresión ajustada para cada tratamiento. Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables. Debajo de las ecuaciones de la curva se representa la probabilidad (p) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

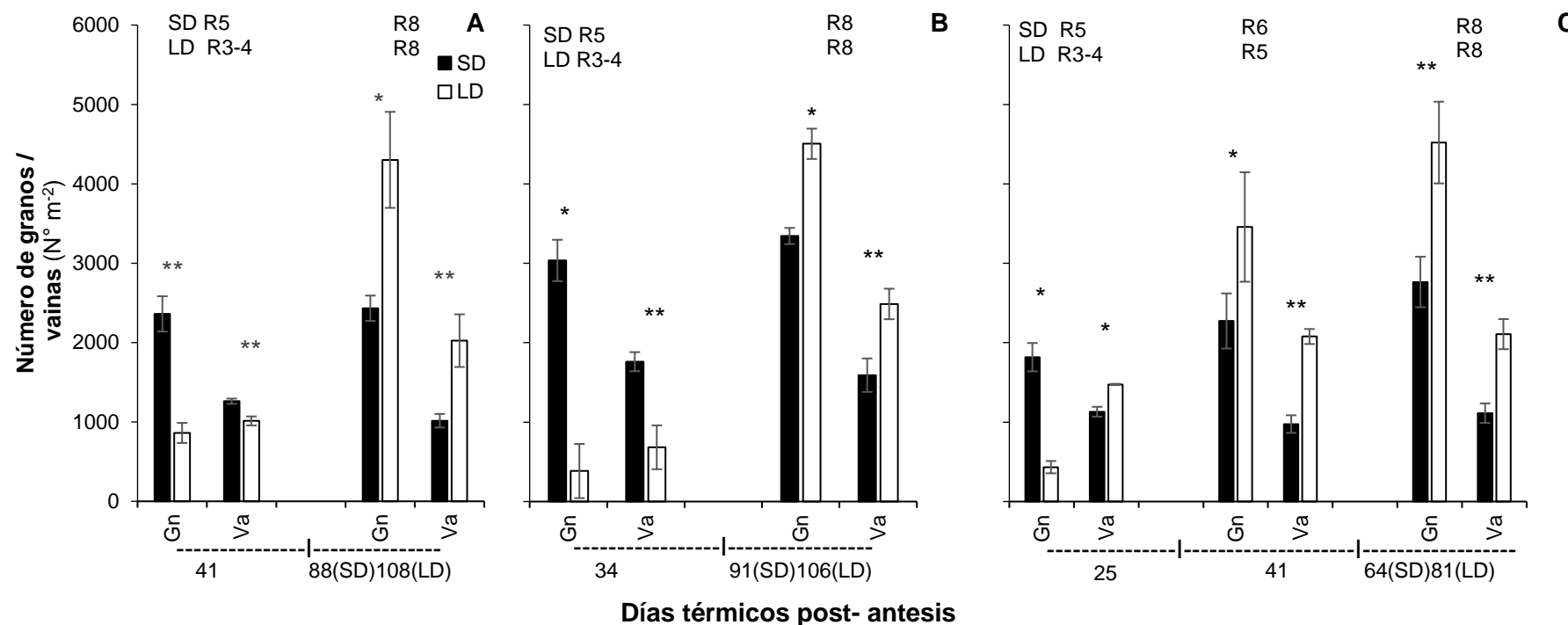


Figura suplementaria 2.4. Número de granos (Gn) y vainas (Va) en plantas de soja cv. NS4619 y NS5019 expuesto a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante la post-antesis en campaña 2016-17 y 2018-19. (A) y (B) NS4619 y NS5019 en campaña 2016-17 respectivamente, y (C) NS4619 en campaña 2018-19. En la parte superior de cada gráfico R3-R8 se corresponde con el estadio fenológico según Fehr & Caviness (1977) de las plantas de cada tratamiento al momento del muestreo. Los muestreos intermedios (25, 34, 41 días térmicos post-antesis, dtpa) se realizaron a los mismos días térmicos entre tratamientos. Los muestreos iniciales e intermedios se realizaron a los mismos días térmicos entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado R8 por lo que difieren en los días térmicos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

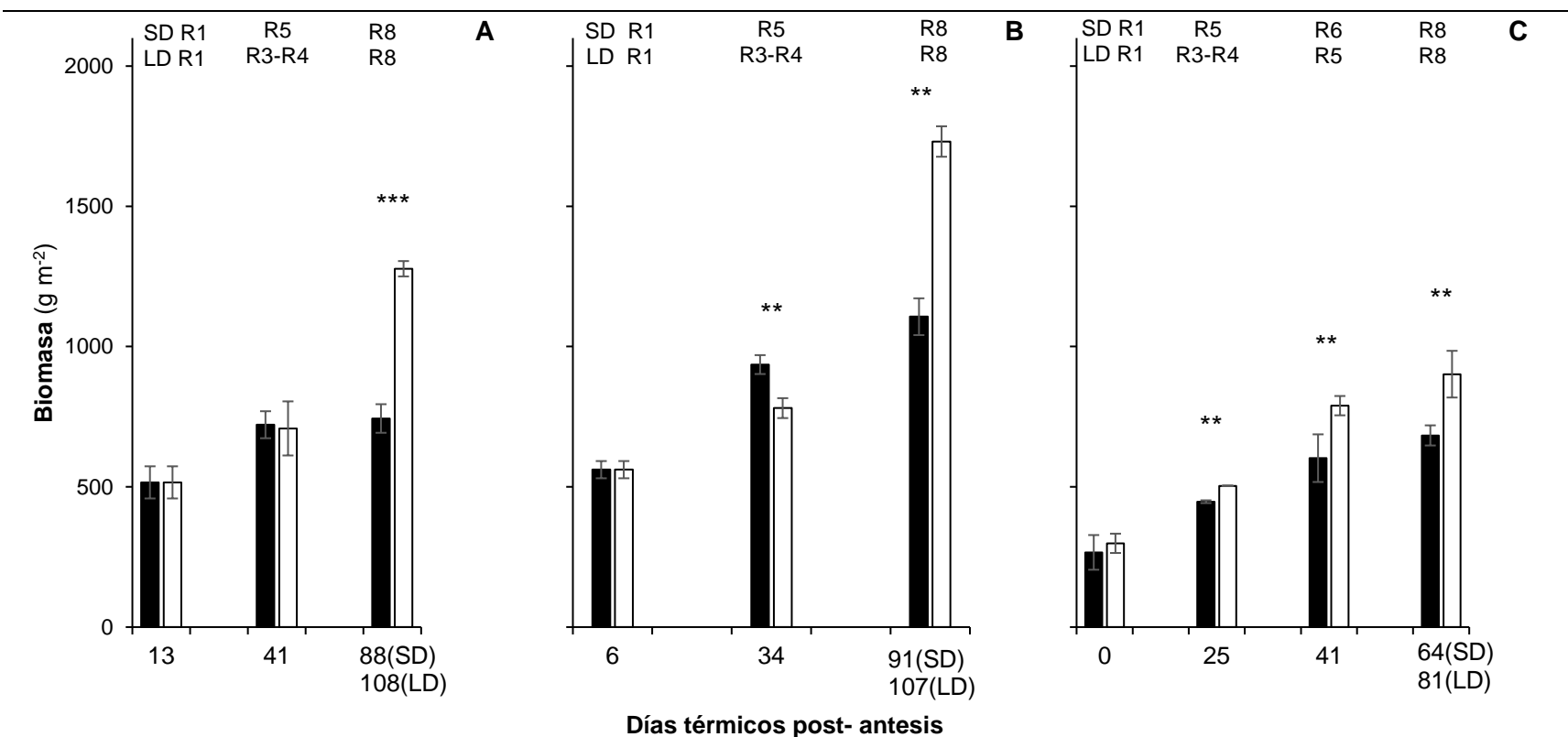


Figura suplementaria 2.5. Biomasa total en plantas de soja cv. NS4619 y NS5019 expuesto a tratamientos fotoperiódicos de día corto (SD) y largo (LD) durante la post-antesis en campaña 2016-17 y 2018-19. (A) y (B) NS4619 y NS5019 en campaña 2016-17 respectivamente, y (C) NS4619 en campaña 2018-19. Biomasa total incluye biomasa de tallo principal, ramificaciones, pecíolos, láminas foliares, granos y pericarpios de vaina. En la parte superior de cada gráfico R3-R8 se corresponde con el estadio fenológico según Fehr & Caviness (1977) de las plantas de cada tratamiento al momento del muestreo. Los muestreos iniciales (0,6,13 días térmicos post-antesis, dtpa) e intermedios (25, 34,41 dtpa) se realizaron a los mismos días térmicos entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado R8 por lo que difieren en los días térmicos en que se realizó. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla suplementaria 2.1. Índice de área foliar (LAI), peso del área foliar, proporción del peso del área foliar en relación a la biomasa total (LWR) y área foliar específica (SLA) en plantas de soja cv. NS4619 y NS5019 expuesto a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en campaña del año 2016-17 y 2018-19.

Campaña	Cultivar	Tratamiento	LAI	Peso foliar por área de suelo	LWR	SLA	LAI	Peso foliar por área de suelo	LWR	SLA	
			(m ² m ⁻²)	(g m ⁻²)	(g hoja g ⁻¹ biomasa)	(m ² g ⁻¹)	(m ² m ⁻²)	(g m ⁻²)	(g hoja g ⁻¹ biomasa)	(m ² g ⁻¹)	
2016-17			41 dtpa								
	NS4619	SD	7.2 a	188.8 ab	0.26 c	0.031 a					
		LD	8.6 a	212.5 ab	0.30 ab	0.032 a					
			34 dtpa								
	NS5019	SD	9.6 a	252.6 a	0.27 bc	0.038 a					
		LD	9.1 a	240.8 a	0.31 a	0.038 a					
		T	ns	ns	**						
		cv.	ns	*	ns						
		T x cv.	ns	ns	ns						
2018-19			25 dtpa				41 dtpa				
	NS4619	SD	3.9 b	106.5 c	0.31 a	0.036 a	4.2 b	122.2 b	0.19 b	0.029 a	
		LD	5.6 bc	136.5 c	0.30 ab	0.037 a	6.0 a	166.7 a	0.24 a	0.030 a	
		T	*	*	ns	ns	*	*	*	ns	
		A	**	**	ns	ns					
		T x A	ns	ns	ns	ns					

Los 34 y 41 días térmicos post-antesis (dtpa) en campaña 2016-17, y 25 dtpa en 2018-19 se corresponden con R5 en SD (según Fehr & Caviness 1977) y R3-R4 en LD. Los 41 dtpa en campaña 2018-19 se corresponde con R6 en SD y R5 en LD. La fuente de variación fue el tratamiento (T) y en cultivar (cv.) en la campaña 2016-17, y el tratamiento y la campaña (A) en el 2018-2019. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher.

Tabla suplementaria 2.2. Índice de cosecha (HI) de planta entera, tallo principal y ramificaciones a madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cv. NS4619 y NS5019 expuesto a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en campaña del año 2016-17 y 2018-19.

Campaña	Cultivar	Tratamiento	Índice de cosecha (HI)		
			Planta entera	Tallo principal	Ramificación
2016-17					
NS4619		SD	0.51 ab	0.50 b	0.57 a
		LD	0.40 c	0.36 c	0.59 a
NS5019		SD	0.56 a	0.55 a	0.60 a
		LD	0.47 bc	0.37 c	0.57 a
		T	**	**	ns
		cv.	*	ns	ns
		T x cv.	ns	ns	ns
2018-19					
NS4619		SD	0.61 a	0.61 a	0.60 a
		LD	0.53 b	0.53 b	0.54 a
		SD +hp	0.34 a		
		LD +hp	0.25 a		
		T	**	**	ns
		A	*	**	ns
		T x A	ns	ns	ns
		T + hp	*		

Los tratamientos SD+hp y LD+hp incluye biomasa abscindida correspondiente a hojas y peciolos en campaña 2018-19. La fuente de variación fue el tratamiento (T) y en cultivar (cv.) en la campaña 2016-17, y el tratamiento y la campaña (A) en el 2018-2019. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher.

Tabla suplementaria 2.3. Porcentaje de nitrógeno derivado de la fijación biológica (BNF), y contenido de N₂ incorporado por la fijación biológica o por la absorción del suelo (SN) en plantas de soja NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día cortos (SD) y días largos (LD) en post-antesis en campaña 2018-19.

Campaña	Tratamiento	0 dtpa			41 dtpa			MC		
		BNF (%)	Contenido BFN (g m ⁻²)	Contenido SN (g m ⁻²)	BNF (%)	Contenido BFN (g m ⁻²)	Contenido SN (g m ⁻²)	BNF (%)	Contenido BFN (g m ⁻²)	Contenido SN (g m ⁻²)
2018-19										
NS4619	SD	33.6 bc	2.5 b	5.0 c	51.6 a	10.1 a	9.4 abc	53.5 a	12.8 a	11.1 ab
	LD	23.6 c	2.3 b	7.8 bc	44.2 ab	8.2 ab	10.4 ab	49.4 ab	13.0 a	13.3 a
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

El 0 día térmico post-antesis (dtpa) y MC (madurez de cosecha) corresponde a R1 y R8 (según Fehr & Caviness 1977) en ambos tratamientos respectivamente. El 41 dtpa se corresponden a R6 en SD y R5 en LD. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. Diferentes letras denotan diferencias significativas a $P < 0.05$ según test de Fisher dentro de un mismo tiempo o entre tiempos.

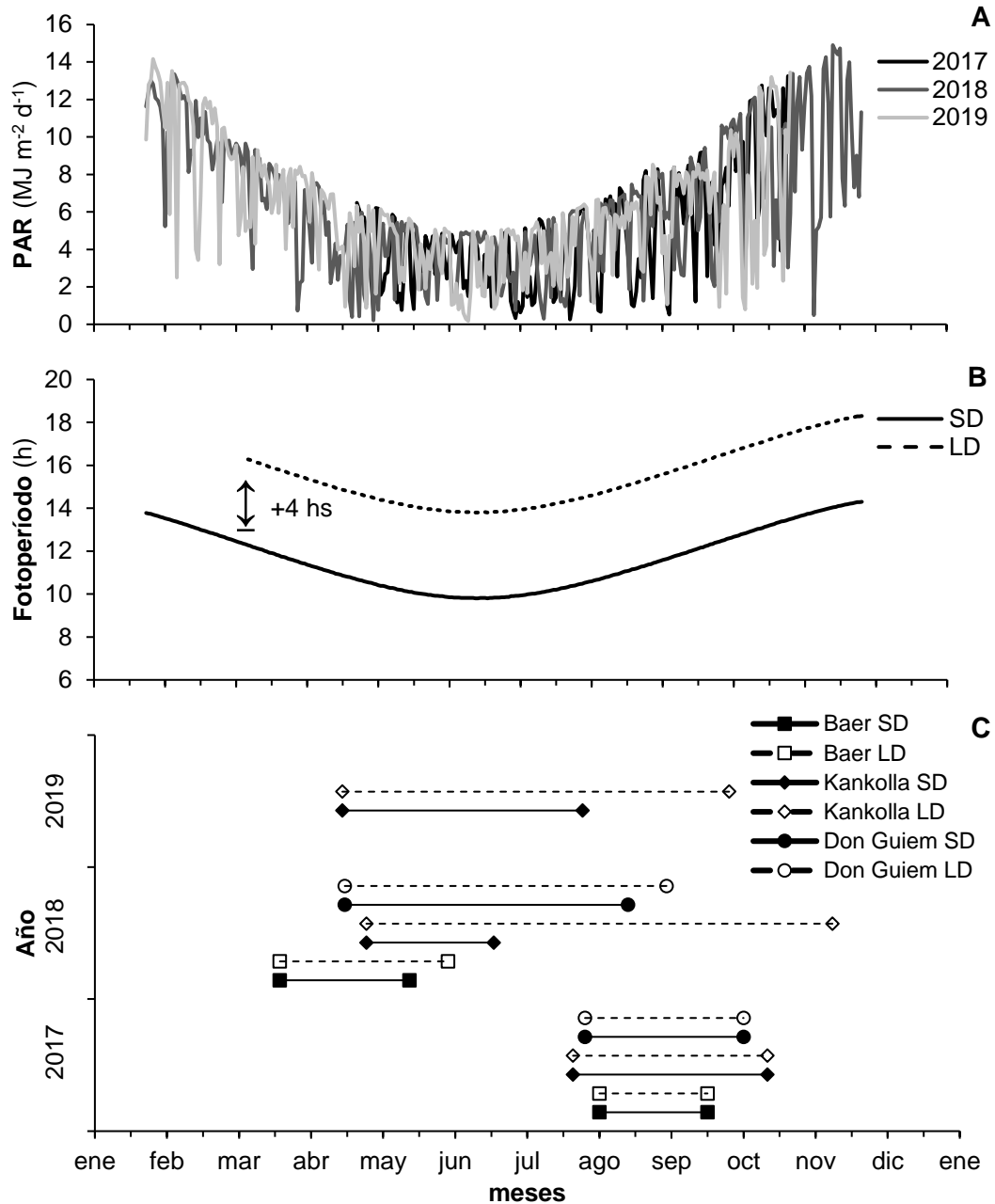


Figura suplementaria 3.1. Radiación fotosintéticamente activa PAR (A), fotoperíodo (B) y duración desde el período de antesis hasta muestreo final (C) en plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamiento de fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) durante la post- antesis en los experimentos de los años 2017, 2018 y 2019. PAR diario se calculó a partir de la conversión de radiación global incidente diaria por el factor 0.48 (Gosse et al. 1986). La doble flecha (↕) indica diferencia en horas entre SD y LD. En el experimento del año 2017 el muestreo final se realizó simultáneamente en ambos tratamientos y previo a madures de cosecha. En cambio, en los experimentos de los años 2018 y 2019 el muestreo final se realizó cuando cada tratamiento fotoperiódico alcanzo madures de cosecha; la madurez de cosecha (MC) fue determinada según escala fenológica de Sosa- Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente.

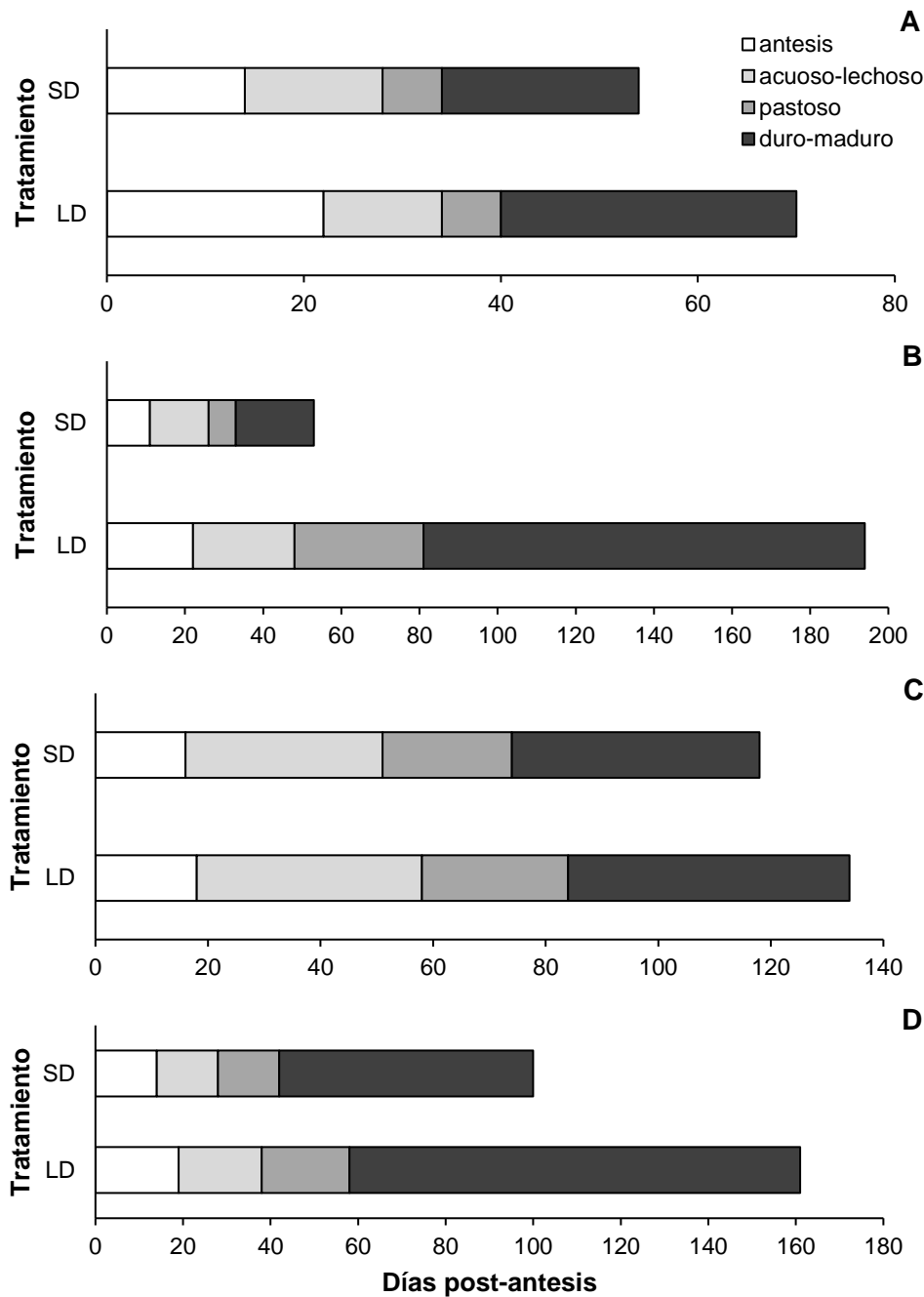


Figura suplementaria 3.2. Duración de etapas fenológicas durante post-antesis en plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) durante la post- antesis en experimento de los años 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en experimento del año 2018, (D) Q. cv. Kankolla en experimento del año 2019. Antesis, grano acuoso-lechoso, pastoso y duro-maduro determinado según escala fenológica según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019) para quínoa y amaranto respectivamente. Periodo de antesis se corresponde con antesis, período de generación y llenado de grano se corresponde con grano acuoso-lechoso y pastoso, y maduración de grano se corresponde con grano duro-maduro.

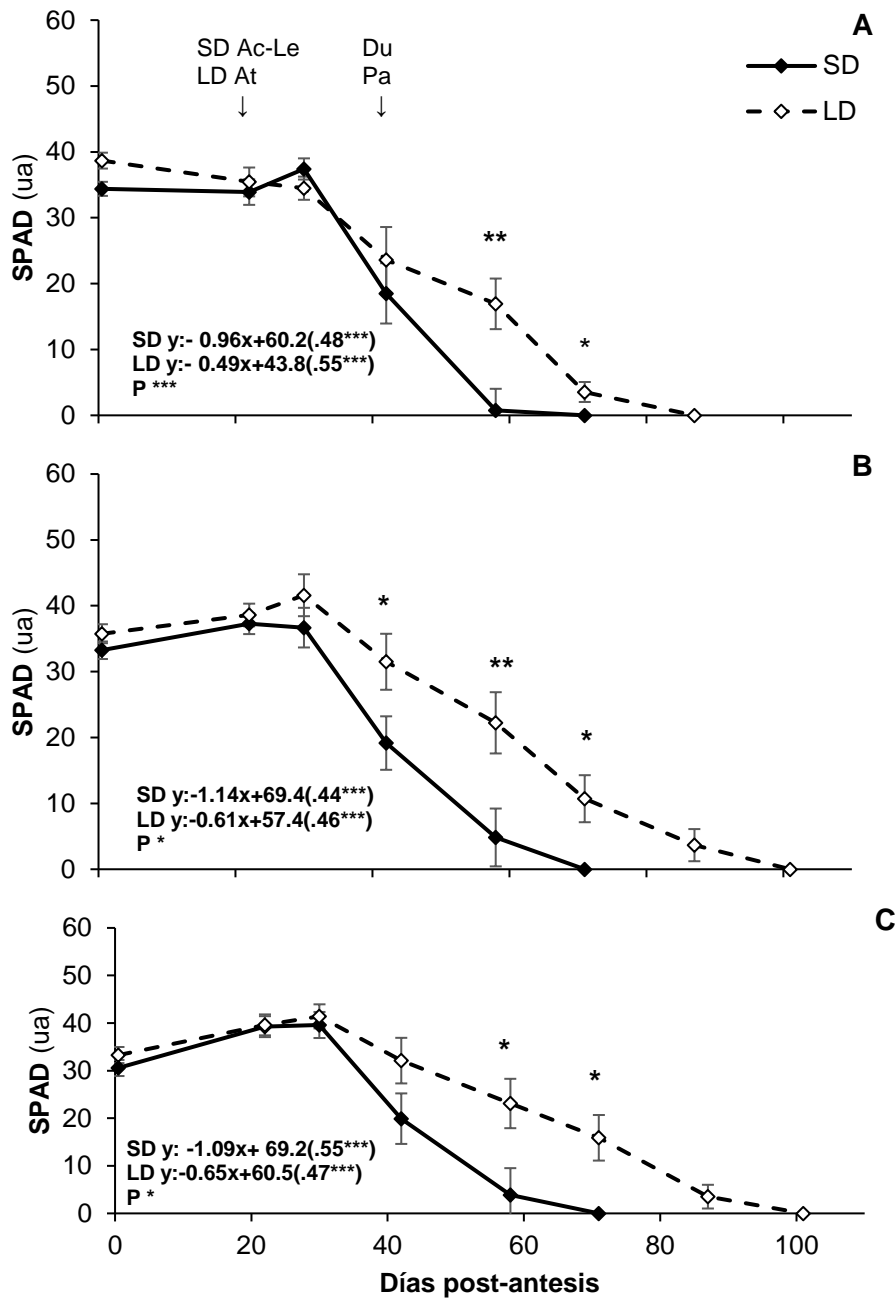


Figura suplementaria 3.3. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimada a partir de índice de “verdor” SPAD) en hojas individualizadas en el tallo principal en plantas de quínoa cv. Kankolla expuestas a tratamiento de fotoperíodo corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento del año 2019. (A) SPAD de hoja 0, (B) hoja +1 y (C) hoja +2. En parte superior del gráfico la flecha (↓) indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016). Las ecuaciones representan la tasa de degradación de las clorofilas (calculada entre el inicio de avance de la degradación y la degradación máxima de clorofilas); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia significativa. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

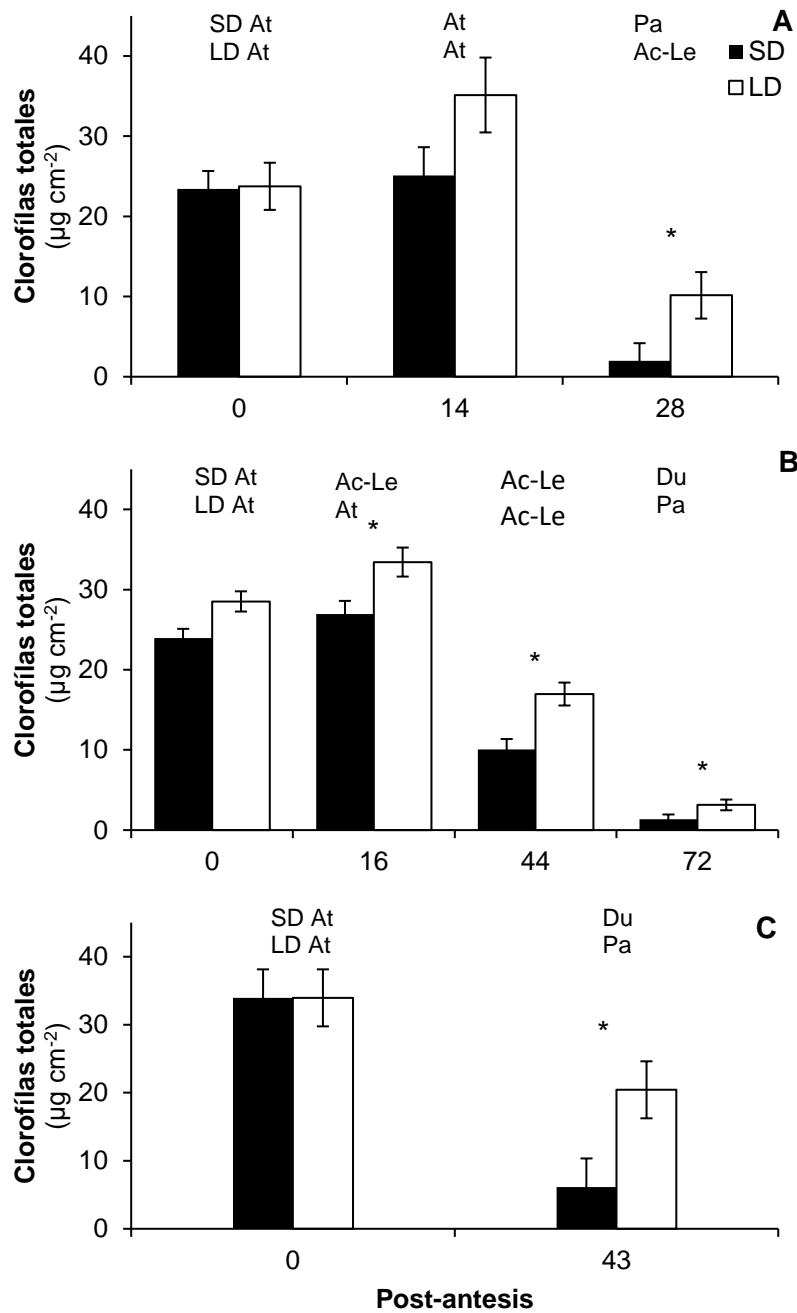


Figura Suplementaria 3.4. Concentración foliar de clorofilas totales en plantas de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post- antesis en experimento del año 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) A. cv. Don Guiem en experimento del año 2018, (C) Q. cv. Kankolla en experimento del año 2019. En parte superior del grafico se indica estadios fenológicos de Antesis (At), grano Acuoso (Ac), Lechoso (Le), Pastoso (Pa) y Duro (Du) según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y Martínez-Nuñez et al. (2019) para quínoa amaranto respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media.

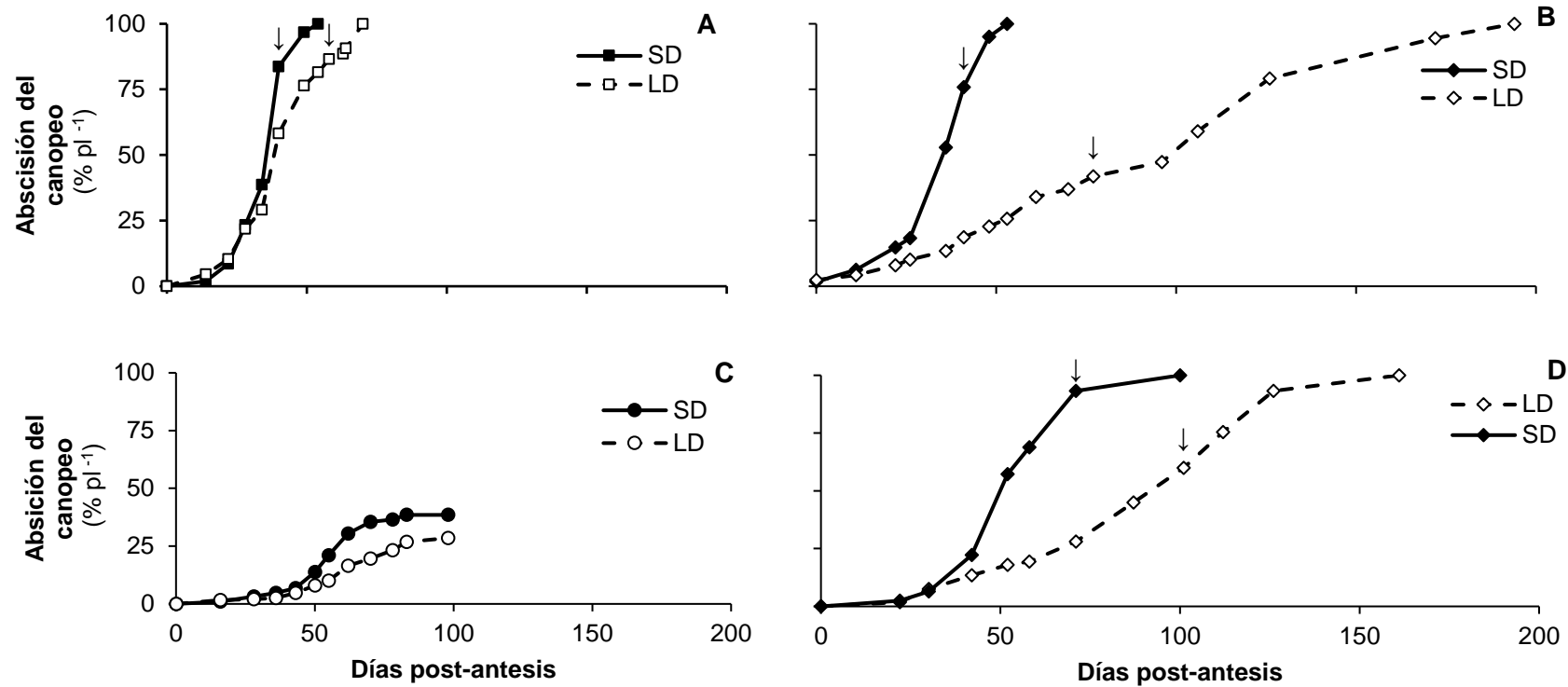


Figura suplementaria 3.5. Abscisión del canopeo en planta de quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y Amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post- antesis en experimento de los años 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla experimento año 2019. En parte superior del grafico la flecha (\downarrow) indica los días post-antesis en que sucedió la abscisión foliar de todo el canopeo perteneciente al tallo principal. La sigla "pl" corresponde a planta.

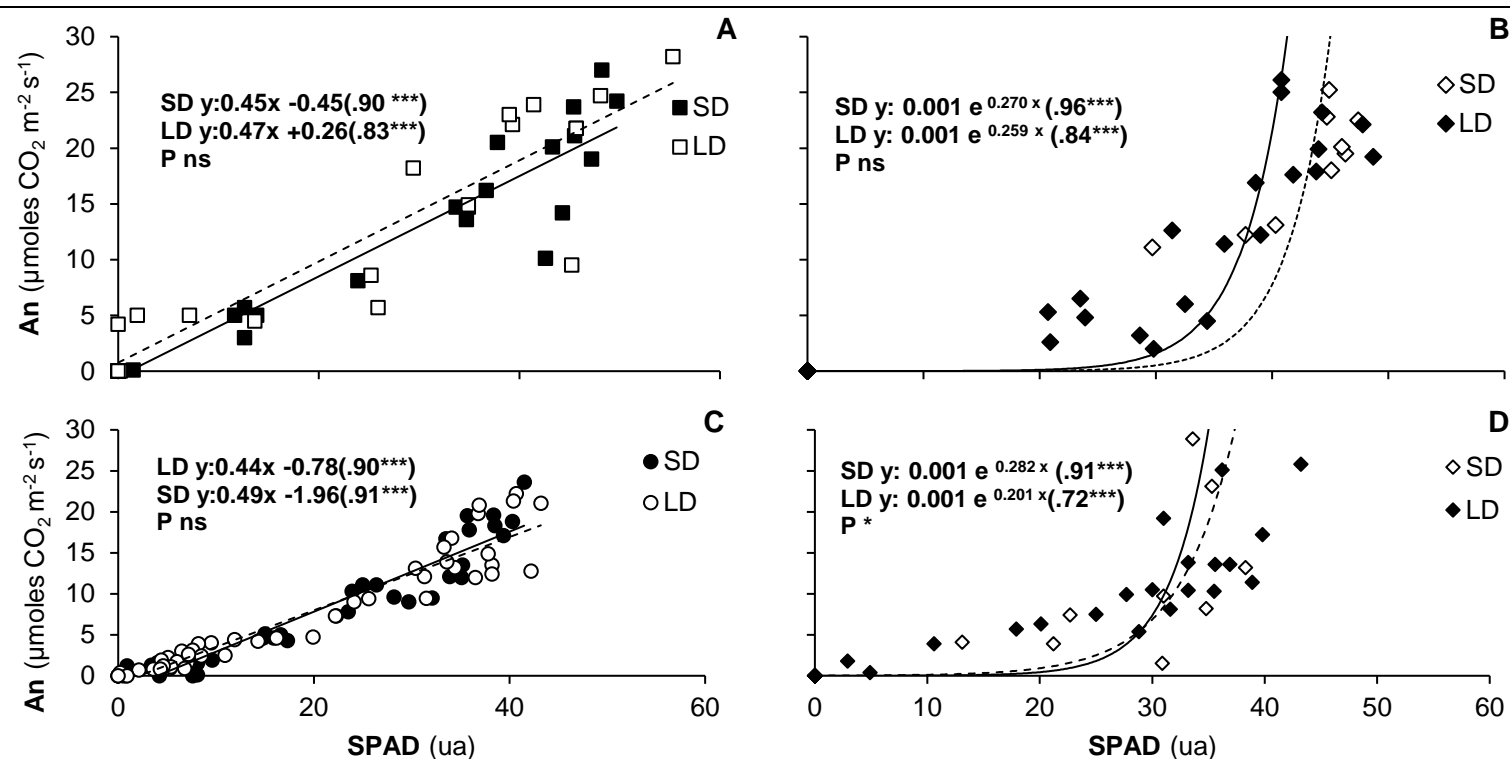


Figura suplementaria 3.6. Relación del contenido de clorofilas foliares (indicada a partir del índice de "verdor" SPAD) y asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en plantas quínoa cv. Baer y cv. Kankolla y Amaranto cv. Don Guiem expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post- antesis en experimento de los años 2018 y 2019. (A) Q. cv. Baer, (B) Q. cv. Kankolla, (C) A. cv. Don Guiem en experimento del año 2018, y (D) Q. cv. Kankolla experimento año 2019. Las rectas y curvas de regresión ajustada están representadas con línea continua para SD y línea discontinua para LD. Se representan las ecuaciones de las rectas y curvas de regresión ajustada para cada tratamiento. Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables. Debajo de las ecuaciones de la curva se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

Tabla suplementaria 3.1. Duración del período de siembra – antesis y antesis - maduras de cosecha en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SDSD) y largo (LDLD) durante pre-antesis y post-antesis en experimento del año 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Duración siembra –antesis (d)	Duración antesis –madures de cosecha (d)
2018			
Q. Baer	SDSD	48	73
	LDLD	56	74
Q.Kankolla	SDSD	51	53
	LDLD	182	149
A. D.Guiem	SDSD	61	118
	LDLD	68	127
2019			
Q.Kankolla	SDSD	74	100
	LDLD	94	140

La fenología se determinó en quínoa según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y en amaranto según escala fenológica de Martines-Nuñez et al. (2019).

Tabla suplementaria 3.2. Estado fenológico, rango de fotoperíodos y radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) a los 45, 81 y 63 días post- antesis en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento del año 2017.

Año	Tratamiento	Estado fenológico	Rango de fotoperíodo (h)	PARac (MJ m ⁻²)
2017				
Q.Baer	SD	Grano pastoso	10.6 – 12.1	221.4
	LD	Grano lechoso-pastoso	14.6 – 16.1	221.4
Q. Kankolla	SD	Grano pastoso	10.3 – 13.0	461.2
	LD	Grano acuoso-lechoso	14.3 – 17.0	461.2
A. D.Guiem	SD	Grano pastoso	10.4 – 12.7	363.7
	LD	Grano lechoso- pastoso	14.4 – 16.7	363.7

Los 45,81 y 63 días post-antesis corresponden al muestreo final del experimento del año 2017, realizado previo a madurez de cosecha. El desarrollo fenológico se determinó en quínoa según escala fenológica de Sosa-Zuniga et al. (2016) y en amaranto según escala fenológica de Martines-Nuñez et al. (2019). PARac se calculó por la sumatoria de radiación global incidente diaria transformada por el factor 0.48 en cada intervalo. Ver materiales y métodos de Capítulo III para una descripción más detallada.

Tabla suplementaria 3.3. Número de nudos del tallo principal, de ramificaciones y área foliar por planta a los 0 y 45 días post- antesis (dpa) en en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie/ Cultivar	Tratamiento	Tiempo 0 dpa			Tiempo 45 dpa		
		Número de nudos de tallo principal (N° pl ⁻¹)	Número de ramificaciones (N° pl ⁻¹)	Área foliar (cm ² pl ⁻¹)	Número de nudos de tallo principal (N° pl ⁻¹)	Número de ramificaciones (N° pl ⁻¹)	Área foliar (cm ² pl ⁻¹)
2018							
Q. Baer	SD	28	32				
	LD	28	32				
Q. Kankolla	SD	ns	ns				
	LD	31	7	209.9			
A. D. Guiem	SD	31	7	294.6			
	LD	ns	ns	ns			
A. D. Guiem	SD	22	5	1445.2	28	8	1601.2
	LD	22	5	1781.4	28	13	1469.0
		ns	ns	ns	ns	ns	ns
2019							
Q. Kankolla	SD	16	20	504.5	15	11	421.5
	LD	16	20	472.8	20	17	1509.9
		ns	ns	ns	ns	ns	*

El tiempo 0 (inicio de tratamiento, antesis) y 45 días dpa corresponden a muestreos previos a madurez de cosecha. El 45 dpa se corresponde en A.cv. Don Guiem con estadio fenológico de grano acuoso-lechoso en ambos tratamientos, y en Q. Cv. Kankolla a estadio fenológico de grano duro para SD y grano pastoso para LD. Determinación de estadio fenológico según Martínez-Nuñez et al. (2019) y Sosa-Zuniga et al. (2016) para amaranto y quínoa respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La sigla "pl" corresponde a planta.

Tabla suplementaria 3.4. Número de nudos del tallo principal y de ramificaciones por planta a madurez de cosecha (MC) en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimentos de los años 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Número de nudos de tallo principal (Nº pl ⁻¹)	Número de ramificaciones (Nº pl ⁻¹)
2018			
Q. Baer	SD	28	28
	LD	32	32
Q. Kankolla		*	ns
	SD	24	22
	LD	29	23
A. D. Guiem		**	ns
	SD	25	11
	LD	24	13
		ns	ns
2019			
Q. Kankolla	SD	13	10
	LD	13	12
		ns	ns

Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La sigla "pl" corresponde a planta.

Tabla suplementaria 3.5. Número de granos por planta, de inflorescencias de tallo principal, de inflorescencia de ramificaciones y peso individual de granos a los 45 días post-antesis en plantas de quínoa cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimentos de los años 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Número de grano por planta	Número de grano de tallo principal	Número de grano de ramificaciones	Peso individual de grano por planta	Peso individual de grano de inflorescencia de tallo principal	Peso individual de grano de inflorescencia de ramificaciones
Especie/ Cultivar		(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(mg Gn ⁻¹)	(mg Gn ⁻¹)	(mg Gn ⁻¹)
2018							
A. D. Guiem	SD	12065	9820	2245	0.63	0.63	0.63
	LD	10358	7424	2934	0.68	0.67	0.69
		ns	ns	ns	ns	ns	ns
2019							
Q. Kankolla	SD	4517	317	4200	2.20	2.20	2.16
	LD	3823	251	3572	0.95	0.92	0.94
		ns	ns	ns	*	*	*

Los 45 días post-antesis corresponde a muestro previo a madurez de cosecha. Los 45 dpa se corresponde en A.cv. Don Guiem con estadio fenológico de grano acuoso-lechoso en ambos tratamientos, y en Q. Cv. Kankolla a estadio fenológico de grano duro para SD y grano pastoso para LD. Determinación de estadio fenológico según y Martines-Nuñez et al. (2019) Sosa-Zuniga et al. (2016) para amaranto y quínoa respectivamente. El peso individual de grano por planta considera en conjunto la inflorescencia del tallo y las ramificaciones. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La sigla "pl" y "Gn" corresponde a planta y grano respectivamente.

Tabla suplementaria 3.6. *Peso individual de grano de inflorescencia de tallo principal e inflorescencia de ramificaciones a madurez de cosecha (MC) en plantas de quínoa cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimentos de los años 2018 y 2019.*

Año Especie/ Cultivar	Tratamiento	Peso individual de grano de inflorescencia de tallo principal (mg Gn ⁻¹)	Peso individual de grano de inflorescencia de ramificaciones (mg Gn ⁻¹)
2018			
Q. Baer	SD	2.67	2.21
	LD	2.02 *	1.63 ns
Q.Kankolla	SD	2.47	2.25
	LD	3.13 ns	2.20 ns
A. D. Guiem	SD	0.73	0.72
	LD	0.72 ns	0.71 ns
2019			
Q. Kankolla	SD	1.83	1.81
	LD	1.83 ns	1.71 ns

Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La sigla "Gn" corresponde a grano

Tabla Suplementaria 3.7. *Partición de biomasa en granos y en biomasa reproductiva a los 45 días post-antesis en plantas de quínoa cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento de año 2018 y 2019.*

Año Especie/ cultivar	Tratamiento	Peso de Granos/ biomasa total	Biomasa reproductiva/ Biomasa total	Peso de granos/ Biomasa total + abscindida	Biomasa reproductiva/ Biomasa total + abscindida
2018					
A. D. Guiem	SD	0.24	0.33	0.23	0.33
	LD	0.21 ns	0.33 ns	0.21 ns	0.32 ns
2019					
Q. Kankolla	SD	0.52	0.63	0.48	0.58
	LD	0.13 *	0.29 *	0.12 *	0.28 *

Los 45 días post-antesis corresponde a muestro previo a madurez de cosecha. Los 45 dpa se corresponde en A.cv. Don Guiem con estadio fenológico de grano acuoso-lechoso en ambos tratamientos, y en Q. Cv. Kankolla a estadio fenológico de grano duro para SD y grano pastoso para LD. Determinación de estadio fenológico según y Martínez-Núñez et al. (2019) Sosa-Zuniga et al. (2016) para amaranto y quínoa respectivamente. Biomasa total incluye biomasa reproductiva y vegetativa, biomasa reproductiva comprende el peso de granos y pericarpios, y biomasa abscindida al peso de hojas abscindidas. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

Tabla suplementaria 3.8. Tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de crecimiento absoluto (AGR) en el período comprendido entre antesis, 45 días post-antesis (dpa) y madurez de cosecha (MC) en plantas de quínoa cv. Baer, cv. Kankolla y amaranto cv. Don Guiem expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento de año 2018 y 2019.

Año	Especie/ Cultivar	Tratamiento	Antesis – 45 dpa				45 dpa –MC			
			RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR + hp (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR + hp (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR + hp (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR + hp (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)
2018										
A. D. Guiem		SD	22.8	454.1	23.2	464.9	3.2	111.9	3.9	144.0
		LD	23.8	494.3	24.1	501.3	3.5	132.3	3.8	150.2
			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2019										
Q. Kankolla		SD	23.5	356.8	25.04	395.52	0.01	15.05	1.57	71.05
		LD	29.2	531.2	30.01	558.06	1.72	84.22	2.91	135.75
			ns	*	ns	*	*	ns	*	*

La RGR y AGR no considera la biomasa "abscindida", y RGR +hp y AGR +hp considera la biomasa "abscindida" (hp). La biomasa "abscindida" incluye hojas "abscindidas" durante el periodo de post-antesis. Los 45 dpa se corresponde en A.cv. Don Guiem con estadio fenológico de grano acuoso-lechoso en ambos tratamientos, y en Q. Cv. Kankolla a estadio fenológico de grano duro para SD y grano pastoso para LD. Determinación de estadio fenológico según y Martines-Nuñez et al. (2019) Sosa-Zuniga et al. (2016) para amaranto y quínoa respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa. La sigla "pl" corresponde a planta.

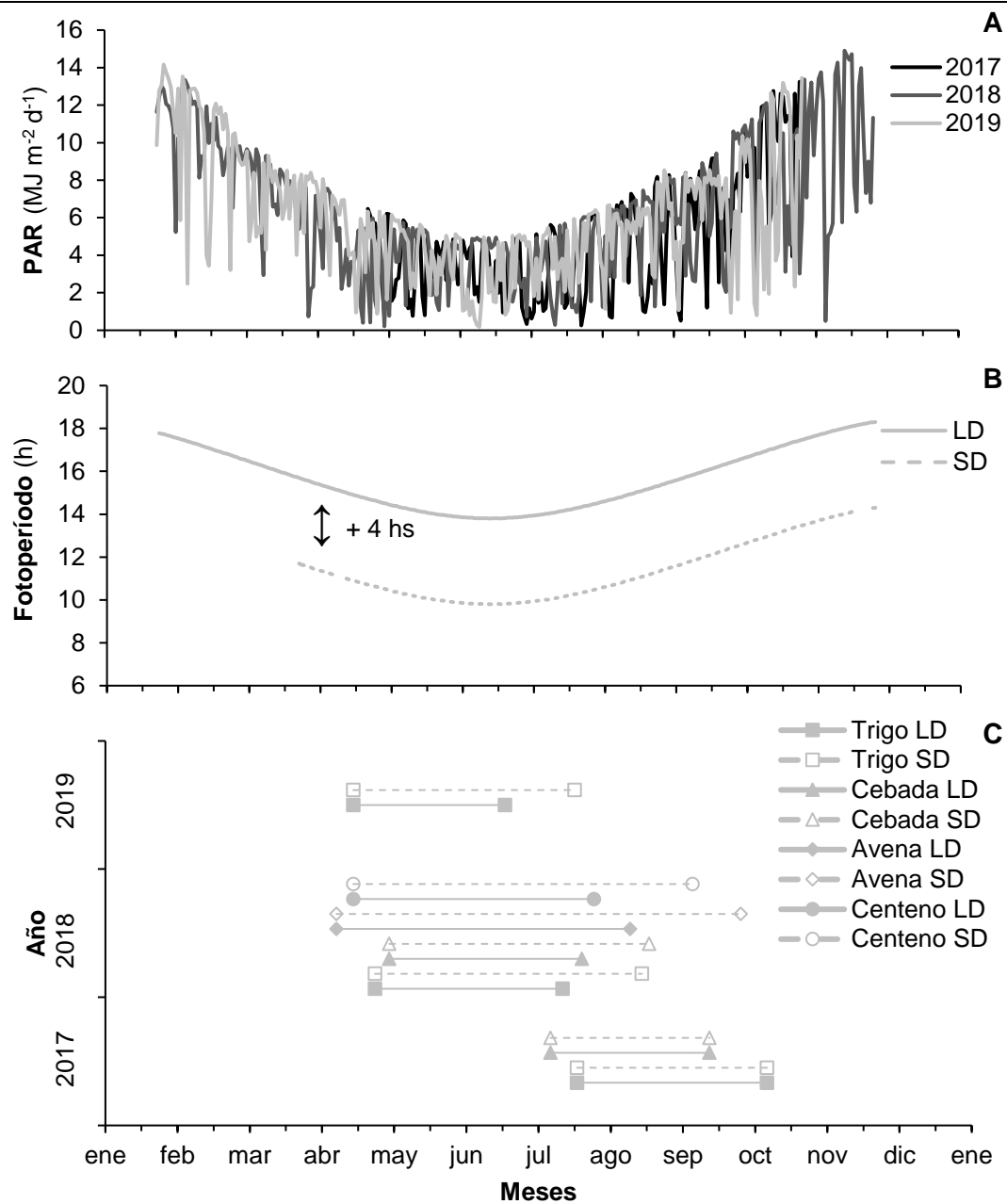


Figura suplementaria 4.1. Radiación fotosintéticamente activa PAR (A), fotoperíodo (B) y duración desde el período de antesis hasta muestreo final (C) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento de fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) durante la post- antesis en los experimentos de los años 2017, 2018 y 2019. El PAR diario se calculó a partir de la conversión de radiación global incidente diaria por el factor 0.48 (Gosse et al. 1986). La doble flecha (↑ ↓) indica diferencia en horas entre SD y LD. En el experimento del año 2017 el muestreo final se realizó simultáneamente en ambos tratamientos al momento que las plantas en LD alcanzaron la madurez de cosecha (Z 94). En cambio, en los experimentos de los años 2018 y 2019 el muestreo final se realizó cuando cada tratamiento fotoperiódico alcanzó madurez de cosecha (Z 94). La madurez de cosecha (Z 94) fue determinada según escala fenológica Zadoks et al. (1974).

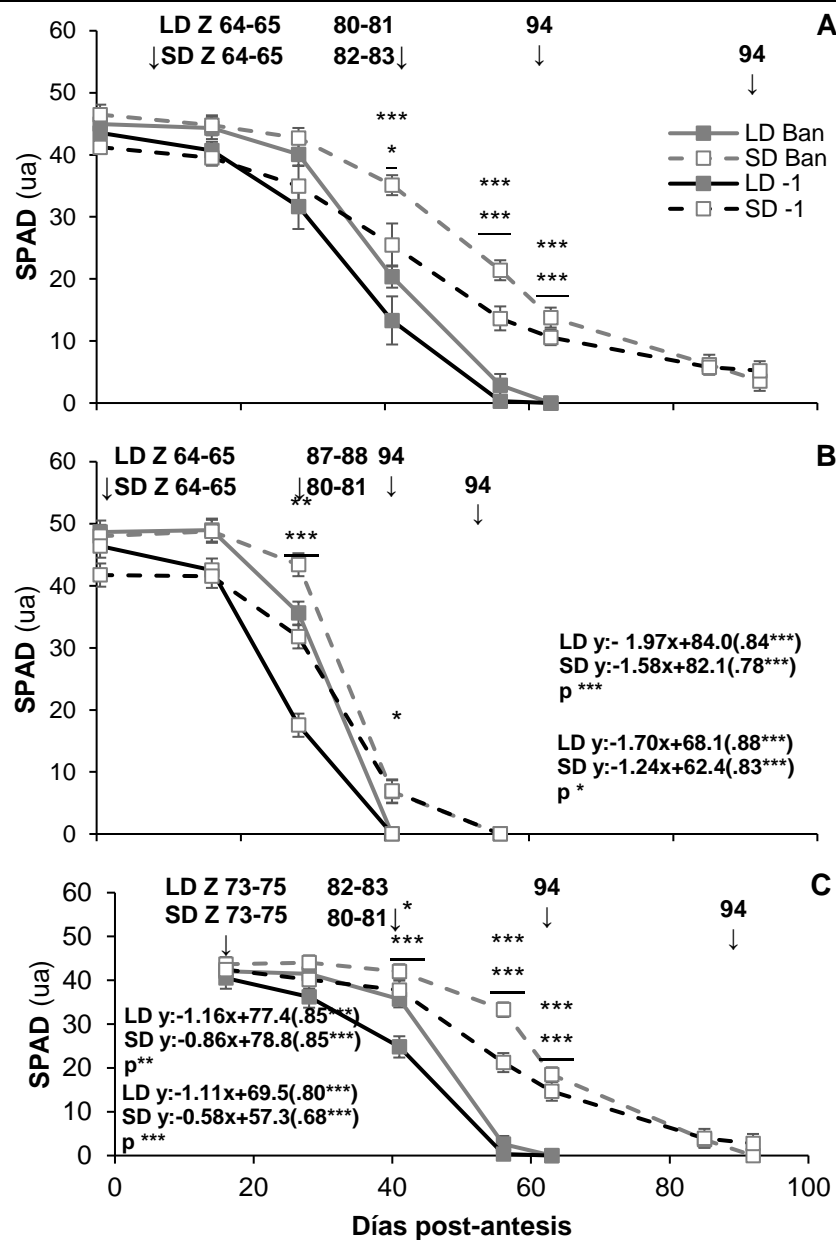


Figura suplementaria 4.2. Modificación del contenido de clorofilas foliares (estimadas a partir de índice de “verdor” SPAD) en hoja bandera (Ban) y hoja -1 (-1) en plantas de trigo expuesto a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2019. Se consideran (A) todos los ejes, (B) tallo principal y (C) primer macollo que alcanzó antesis post-tratamiento. En la parte superior de los gráficos la flecha (↓) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Las ecuaciones representan la tasa de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre el inicio de avance de la degradación y la degradación máxima de clorofilas) en hoja bandera y -1 ecuación superior e inferior respectivamente; entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos, y ns ausencia de diferencia. Los asteriscos sin subrayar (*) y los asteriscos subrayados (*) se corresponden a la P en hoja bandera y -1 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

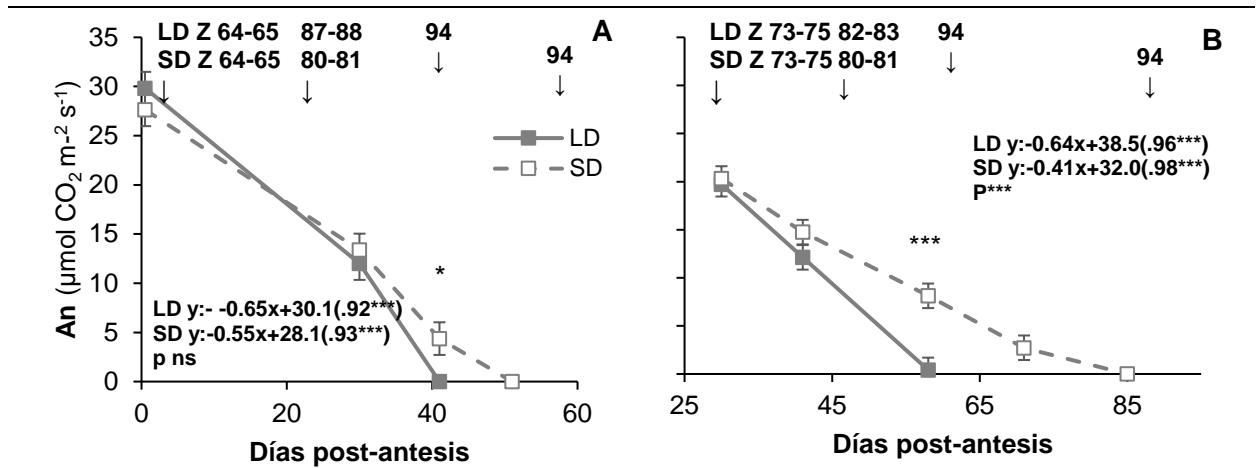


Figura suplementaria 4.3. Modificación de la asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (An) en plantas de trigo expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en el experimento del año 2019. Se considera en (A) tallo principal y (B) primer macollo que alcanzó antesis post-tratamiento. En la parte superior de los gráficos la flecha (\downarrow) indica estado fenológico según Zadoks et al. (1974). Las ecuaciones representan la tasa de avance de disminución de la An (calculada entre en inicio de avance de la disminución de An y An nula); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos, y ns ausencia de diferencia. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media.

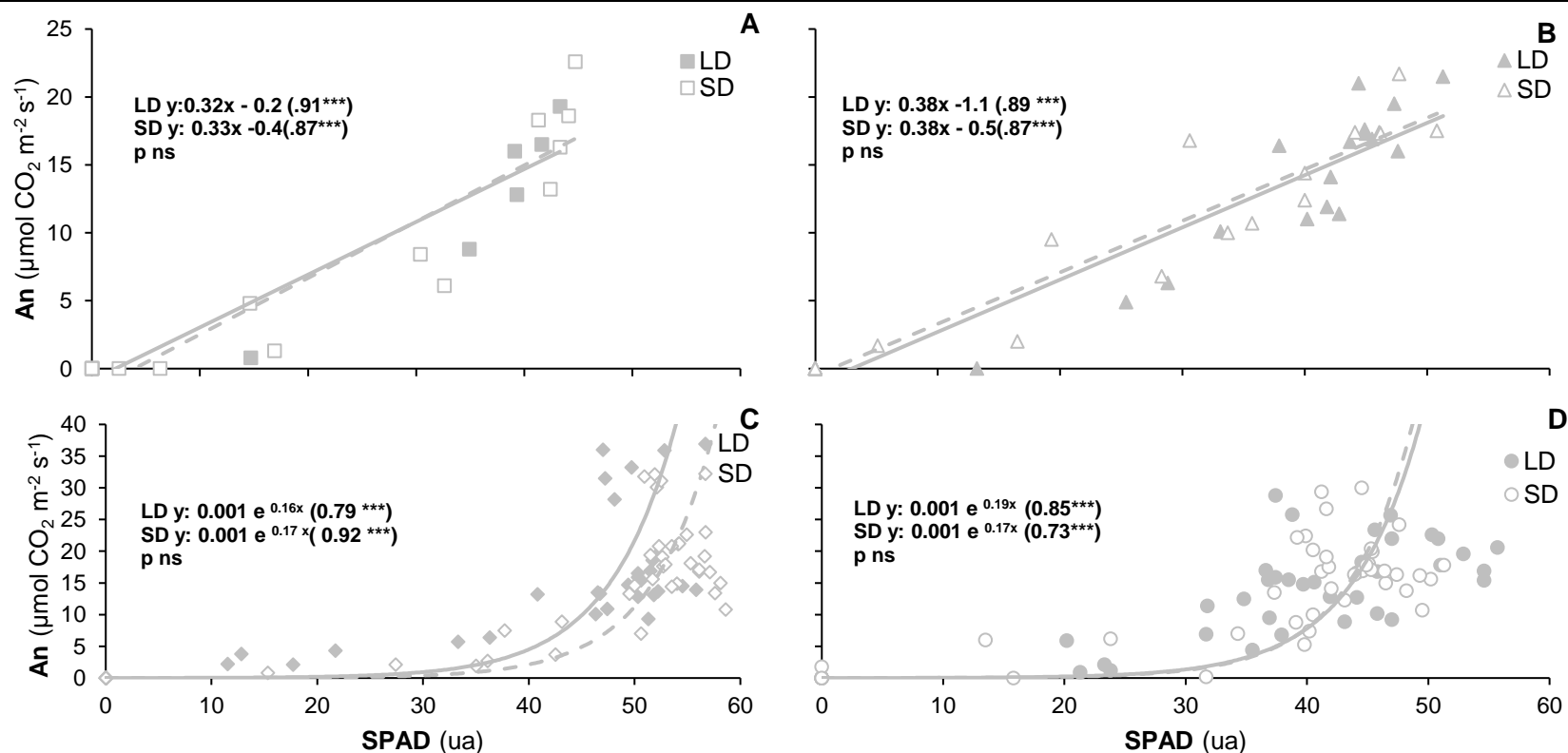


Figura suplementaria 4.4. Relación del contenido de clorofilas foliares (indicada a partir del índice de ``verdor`` SPAD) y asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en tallo principal en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2018. (A) trigo, (B) cebada, (C) avena y (D) centeno. Las rectas y curvas de regresión ajustada están representadas con línea continua para SD y línea discontinua para LD. Se representan las ecuaciones de las rectas y curvas de regresión ajustada para cada tratamiento; entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables. Debajo de las ecuaciones de la recta o curvas se representa la probabilidad (p) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

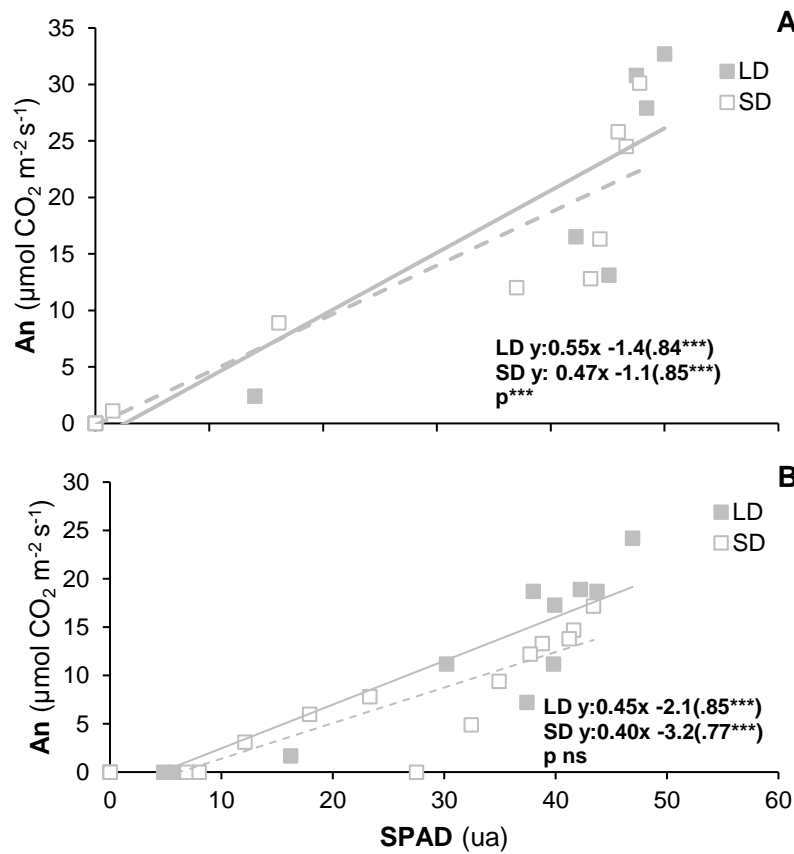
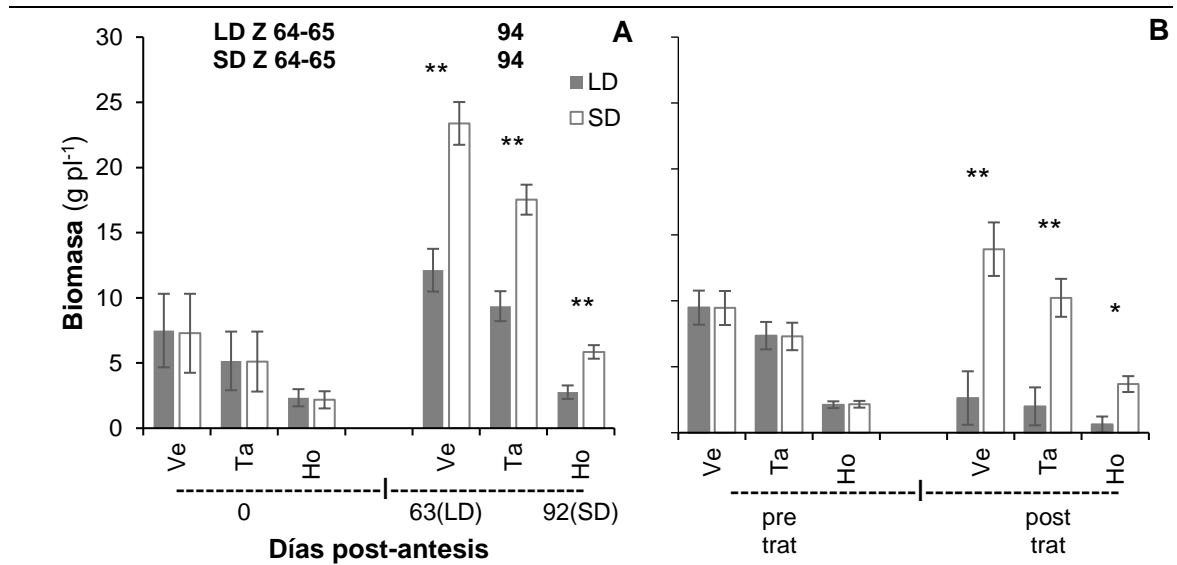


Figura suplementaria 4.5. Relación del contenido de clorofilas foliares (indicada a partir del índice de "verdor" SPAD) y asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en plantas de trigo expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2019. (A) tallo principal y (B) primer macollo que alcanzó antesis post-tratamiento. Las rectas de regresión ajustada están representadas con línea continua para SD y línea discontinua para LD. Se representan las ecuaciones de las rectas de regresión ajustada para cada tratamiento. Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables. Debajo de las ecuaciones de la recta se representa la probabilidad (p) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.



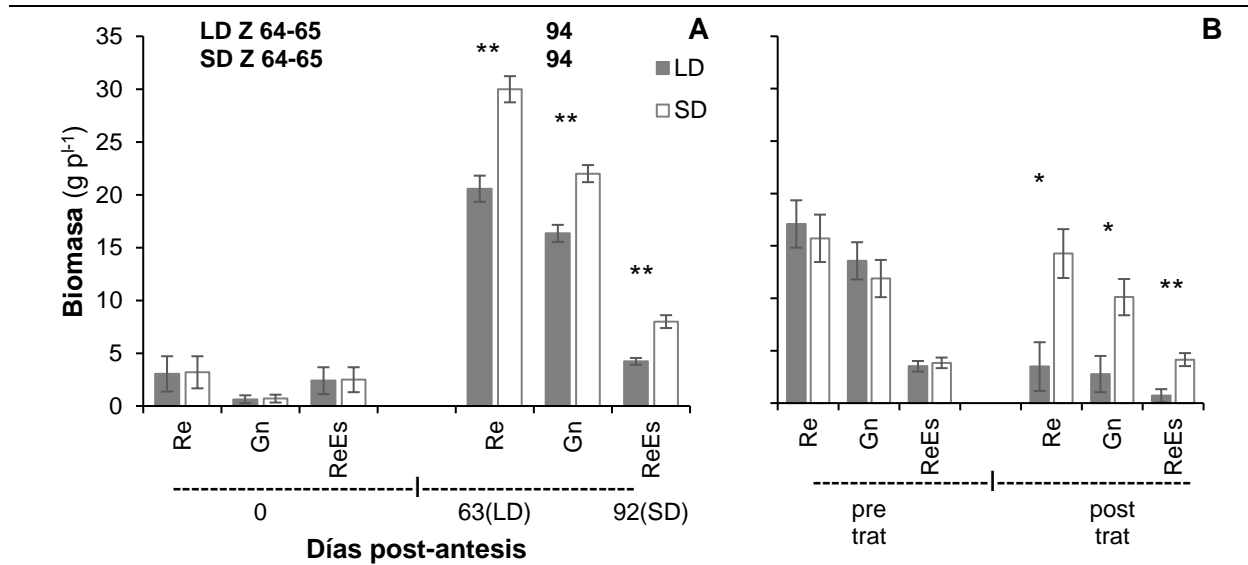


Figura suplementaria 4.7. Biomasa reproductiva (Re), de granos (Gn) y de resto de espiga (ReEs) en plantas de trigo expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2019. Se considera en (A) la totalidad de los ejes en muestreo inicial (antesis, Z64-65) y a madurez de cosecha (Z 94), y (B) ejes pre-tratamiento (pre trat) y post-tratamiento (post trat) a madurez de cosecha (Z 94). El muestreo inicial (0 días post-antesis, dpa) se realizó a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (Z 94) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. La biomasa reproductiva incluye peso de granos y resto de espiga; la biomasa de resto de espiga incluye raquis, glumas y aristas. En la parte superior del gráfico se indican los estadios fenológicos según escala de Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

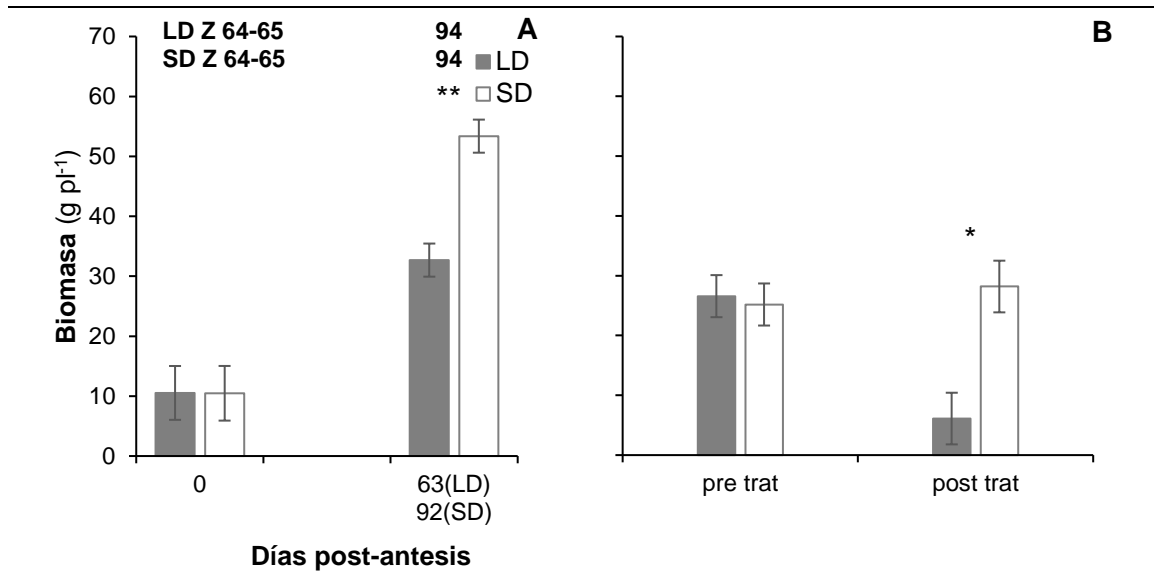


Figura suplementaria 4.8. Biomasa total en plantas de trigo expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en el experimento del año 2019. Se considera en (A) la totalidad los ejes en muestreo inicial (antesis, Z64-65) y a madurez de cosecha (Z 94), y (B) ejes pre-tratamiento (pre trat) y post-tratamiento (post trat) a madurez de cosecha (Z 94). El muestreo inicial (0 días post-antesis, dpa) se realizó a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (Z 94) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. La biomasa total incluye biomasa vegetativa y reproductiva. En la parte superior del gráfico se indican los estadios fenológicos según escala de Zadoks et al. (1974). Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla suplementaria 4.1. Duración del período de siembra – antesis (Z 64-65) y antesis - madures de cosecha (Z 94) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento de fotoperíodo de día largo (LDLD) y corto (SDSD) durante todo el ciclo de vida de las plantas en experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie	Tratamiento	Duración siembra – antesis (d)	Duración antesis – madures de cosecha (d)
2018			
Trigo	LDLD	69	78
	SDSD	141	75
Cebada	LDLD	75	80
	SDSD	120	95
Avena	LDLD	53	122
	SDSD	88	133
Centeno	LDLD	52	100
	SDSD	167	26

La fenología se determinó a partir de Zadoks et al. (1974). En trigo y centeno los tratamientos SDSD no alcanzaron la madurez de cosecha al momento de finalizar el experimento, y el desarrollo en ambas especies correspondía a grano acuoso (Z 70-72)

Tabla suplementaria 4.2. Estado fenológico, rango de fotoperíodo y radiación fotosintéticamente activa acumulada (PARac) a los 79 y 66 días post- antesis en plantas trigo y cebada expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en experimento del año 2017.

Año Especie	Tratamiento	Estado fenológico	Rango de fotoperíodo (h)	PARac (MJ m ⁻²)
2017				
Trigo	LD	Grano maduro – madurez de cosecha	14.2 – 16.8	420.8
	SD	Grano lechoso-pastoso	10.2 – 12.8	420.8
Cebada	LD	Grano maduro – madurez de cosecha	14.1 – 16	290.5
	SD	Grano lechoso -pastoso	10.1 – 12	290.5

Los 79 y 66 días post- antesis corresponden a la finalización del experimento del año 2017. La fenología se determinó a partir de Zadoks et al. (1974), por lo tanto, grano duro-madurez de cosecha (Z 90-94), grano lechoso (73-79) y grano pastoso (80-89). PARac se calculó por la sumatoria de radiación global incidente diaria transformada por el factor 0.48 en cada intervalo. Ver materiales y métodos de capítulo IV para una descripción más detallada.

Tabla suplementaria 4.3. Área y peso de hojas verdes en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuestas a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post- antesis en el experimento del año 2018.

Año	Especie	Días post- antesis	Tratamiento	Área foliar verde (cm ² pl ⁻¹)	Peso área foliar verde (g pl ⁻¹)	
2018	Trigo	0	LD	520.2	2.06	
			SD	461.7	1.98	
					ns	ns
		57	LD	152.6	0.74	
			SD	506.8	2.17	
				*	*	
		78	LD	19.3	0.05	
		111	SD	386.9	1.65	
			**	***		
	Cebada	0	LD	325.8	1.42	
			SD	456.4	1,84	
				ns	ns	
		32	LD	242.8	0.94	
			SD	421.3	1.61	
				*	ns	
		80	LD	154.1	0.61	
		108	SD	237.2	0.79	
			ns	ns		
	Avena	0	LD	444.8	1.45	
			SD	436.6	1.43	
				ns	ns	
		59	LD	349.8	1.33	
			SD	385.8	1.46	
				ns	ns	
122		LD	87.9	0.52		
168		SD	105.6	0.48		
		ns	ns			
Centeno	0	LD	228.2	0.67		
		SD	188.2	0.62		
			ns	ns		
	60	LD	121.8	0.52		
		SD	451.1	1.42		
			*	*		
	100	LD	126.3	0.42		
	144	SD	175.8	0.70		
		ns	ns			

El muestreo inicial se realizó a los 0 días post-antesis (dpa) que se corresponde según escala fenológica Zadocks et al. (1974) con antesis (Z 64-65). Los muestreos intermedios fueron realizados a los 57, 32, 59 y 60 dpa. En trigo muestreo intermedio correspondió a desarrollo Z 80-83 (LD) y Z 70-75 (SD), en cebada a Z 75-78 (LD) y Z 72- 74 (SD), en avena a Z 73-74 (ambos tratamientos) y en centeno Z 71-73 (ambos tratamientos). El muestreo final se realizó a madurez de cosecha (Z 94) por lo que difieren en los días post antesis en que se realizó entre los tratamientos. La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

Tabla suplementaria 4.4. Número de ejes fértiles y no fértiles considerando la totalidad de los ejes, los ejes pre-tratamiento y los ejes post-tratamiento por planta a madurez de cosecha (Z 94) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie	Tratamiento	Ejes totales		Ejes pre-tratamiento		Ejes post- tratamiento		
		Fértiles	No fértiles	Fértiles	No fértiles	Fértiles	No fértiles	
		(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	(Nº pl ⁻¹)	
2018								
Trigo	LD	10	1	4	-	6	1	
	SD	17	3	3	-	14	3	
		**	*	ns		**	*	
Cebada	LD	26	6	4	-	22	6	
	SD	36	3	5	-	32	3	
		**	ns	ns		**	ns	
Avena	LD	55	4	3	-	52	4	
	SD	52	10	3	-	49	10	
		ns	*	ns		ns	*	
Centeno	LD	39	2	3	-	36	2	
	SD	34	2	3	-	31	2	
		ns	ns	ns		ns	ns	
2019								
Trigo	LD	11	1	7	-	4	1	
	SD	19	7	7	-	12	7	
		**	*	ns		*	*	

La totalidad los ejes considera ejes pre-tratamiento y post-tratamiento. La madurez de cosecha (Z 94) fue determinada según Zadoks et al. (1974). La sigla "pl" corresponden a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

Tabla suplementaria 4.5. Número de granos y espiguillas por planta y por espiga o panícula, número de granos por espiguillas y peso individual de grano considerando los ejes pre-tratamiento a madurez de cosecha (Z 94) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019.

Año Especie	Tratamiento	Número de granos por planta (N ^o pl ⁻¹)	Número de espiguillas por planta (N ^o pl ⁻¹)	Número de granos por espiga (N ^o esp ⁻¹)	Número de espiguilla por espiga (N ^o esp ⁻¹)	Número de granos por espiguilla (N ^o esp ^g ⁻¹)	Peso individual de grano (mg Gn ⁻¹)
2018							
Trigo	LD	109	63	30	18	1.68	29.28
	SD	89	58	25	17	1.51	27.49
Cebada		ns	ns	ns	ns	ns	ns
	LD	44	101	12	28	0.42	36.4
	SD	77	158	15	30	0.49	43.3
Avena				ns	ns	ns	ns
	LD	112	57	31	16	1.93	28.3
	SD	99	50	29	15	1.96	28.2
Centeno				ns	ns	ns	ns
	LD	85	68	22	19	1.11	8.78
	SD	59	60	19	19	0.97	8.22
		ns	ns	ns	ns	ns	ns
2019							
Trigo	LD	381	140	55	20	2.74	34.5
	SD	368	136	56	20	2.94	32.0
		ns	ns	ns	ns	ns	ns

La madurez de cosecha (Z 94) fue determinada según Zadoks et al. (1974). Las siglas "pl", "esp", "espg" y "Gn" corresponden a planta, espiga o panícula, espiguilla y grano respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

Tabla suplementaria 4.6. Número de granos y espiguillas por planta y por espiga o panícula, número de granos por espiguillas y peso individual de grano considerando los ejes post-tratamiento a madurez de cosecha (Z 94) en plantas de trigo, cebada, avena y centeno expuesta a tratamiento fotoperiódico de día largo (LD) y corto (SD) durante post-antesis en los experimentos de los años 2018 y 2019.

Año	Tratamiento	Número de granos por planta (N° pl ⁻¹)	Número de espiguillas por planta (N° pl ⁻¹)	Número de granos por espiga (N° esp ⁻¹)	Número de espiguillas por espiga (N° esp ⁻¹)	Número de granos por Espiguilla (N° esp ⁻¹)	Peso individual de grano (mg Gn ⁻¹)
2018							
Trigo	LD	181	100	30	16	1,86	43.16
	SD	247	185	18	13	1,36	38.64
		*	*	**	*	*	ns
Cebada	LD	283	447	13	21	0,63	41.28
	SD	276	645	9	21	0,42	41.71
		ns	**	*	ns	**	ns
Avena	LD	420	293	8	6	1,44	30.80
	SD	562	328	12	7	1,73	33.70
		**	ns	**	*	**	*
Centeno	LD	672	494	19	14	1,40	7.26
	SD	677	500	22	17	1,35	7.97
		ns	ns	ns	ns	ns	ns
2019							
Trigo	LD	100	60	25	14	1,34	29.10
	SD	437	222	34	18	1,93	22.70
		**	*	ns	ns	ns	*

La madurez de cosecha (Z 94) fue determinada según Zadoks et al. (1974). Las siglas "pl", "esp", "espg" y "Gn" corresponden a planta, espiga o panícula, espiguilla y grano respectivamente. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

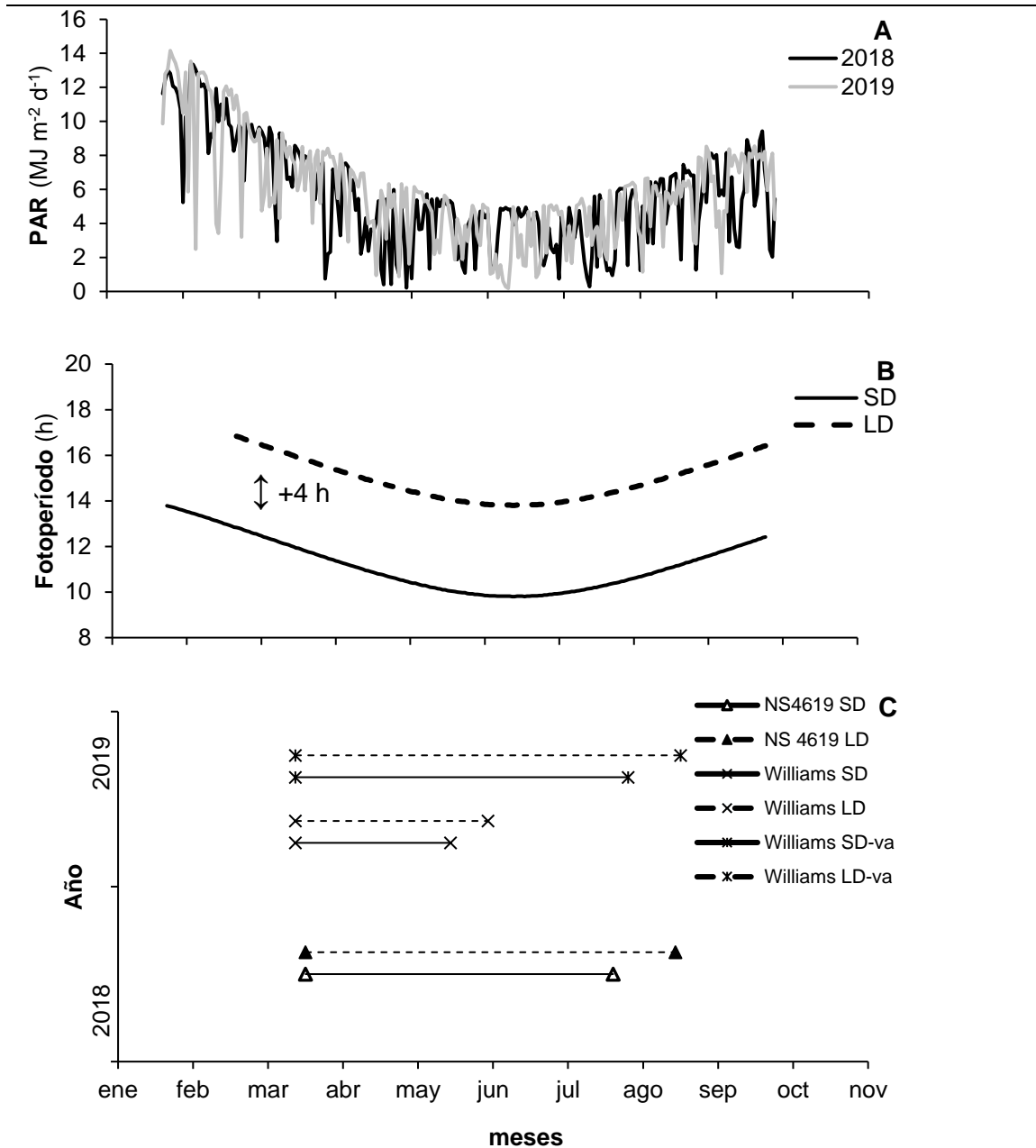


Figura suplementaria 5.1. Radiación fotosintéticamente activa diaria (PAR) (A), temperatura (B), fotoperíodo (C) y duración del estadio reproductivo (R1-R8) (D) en plantas de soja cv. NS 4619 y Williams 82 expuestas a tratamientos de fotoperíodo de día corto (SD) y largos (LD) durante post-antesis en experimento 1 del año 2018 y 2019. En año 2019 en el cv. Williams 82 el tratamiento fotoperiódico fue combinado con tratamiento de desfrutado (-va). PAR diario se calculó a partir de la conversión de radiación global incidente diaria por el factor 0.48 (Gosse et al. 1986). La doble flecha (↕) indica diferencia en horas entre SD y LD. R1 y R8 corresponden a antesis y madurez de cosecha respectivamente según Fehr & Caviness (1977).

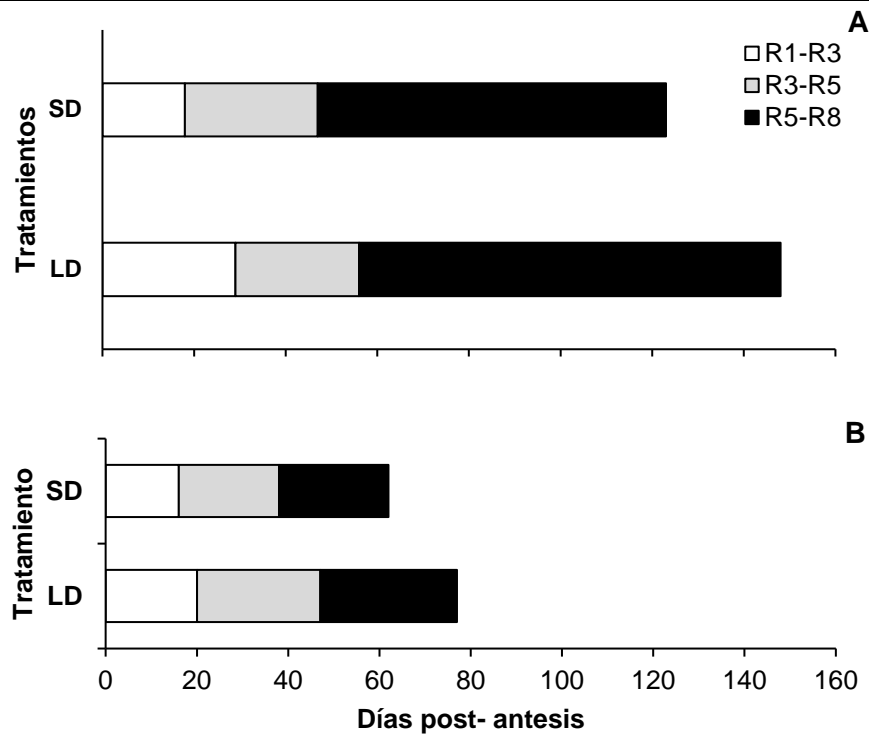


Figura suplementaria 5.2. Duración de etapas fenológicas durante post-antesis en plantas de soja cv. NS4619 y Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y día largo (LD) en experimento 1 del año 2018 y 2019. (A) cv. NS4619 y (B) cv. Williams. Estadios fenológicos R1- R3, R3-R5, R5- R8 determinadas según escala de Ferh & Caviness (1977).

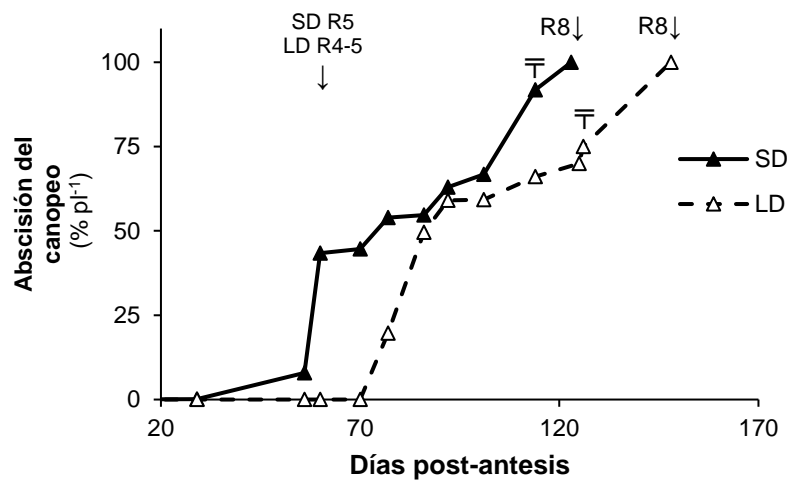


Figura suplementaria 5.3. "Abscisión" del canopeo en planta de soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en experimento 1 del año 2018. En parte superior del gráfico la flecha (↓) indica los días post-antesis de estadios fenológicos R4-R8 según Ferh & Caviness (1977) para SD y LD; el símbolo (≡) denota los días post-antesis en el que todas las hojas correspondientes al tallo principal abscindieron. La sigla "pl" corresponde a planta.

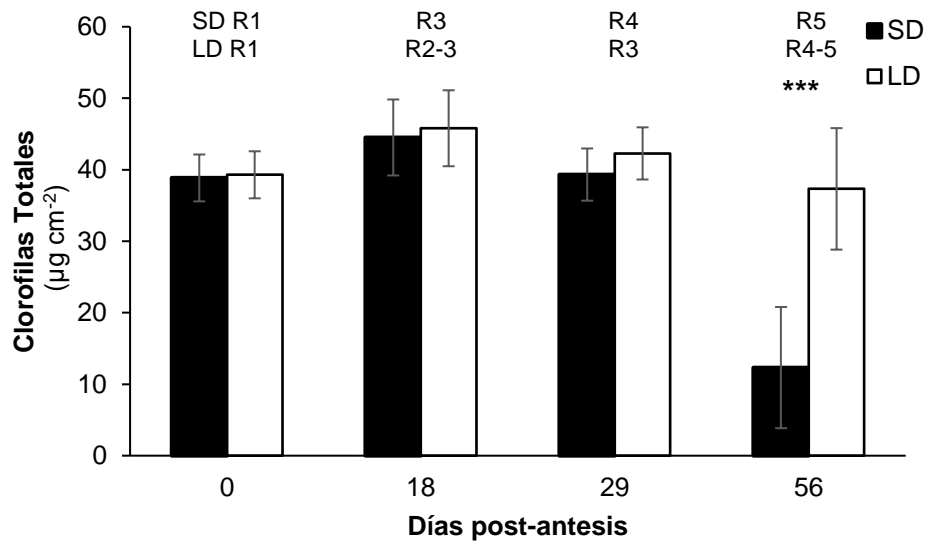


Figura suplementaria 5.4. Concentración foliar de clorofilas totales en plantas de soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en experimento 1 del año 2018. En la parte superior del gráfico R1-R8 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media.

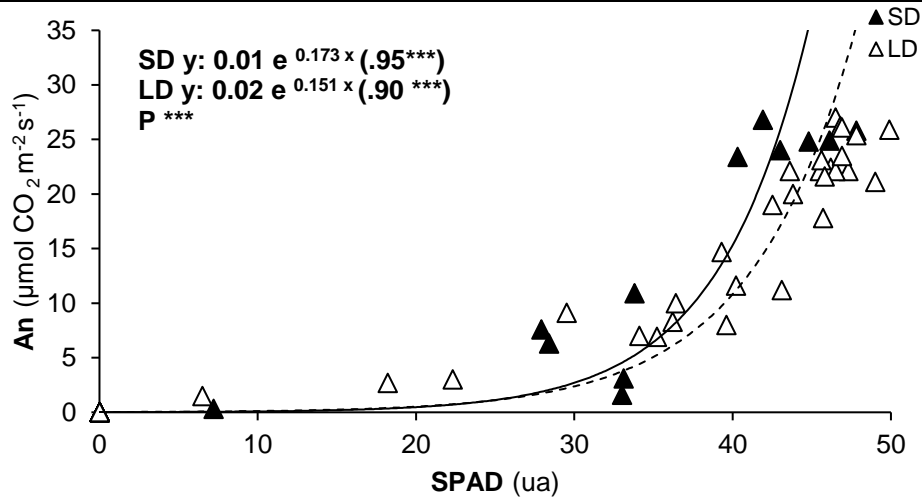


Figura Suplementaria 5.5. Relación del contenido de clorofilas foliares (indicada a partir del índice de "verdor" SPAD) y asimilación neta de dióxido de carbono a saturación lumínica (A_n) en plantas de soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en experimento 1 del año 2018. Las curvas de regresión ajustada están representadas con línea continua para SD y línea discontinua para LD. Se representan las ecuaciones de las curvas de regresión ajustada para cada tratamiento. Entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables. Debajo de las ecuaciones de la curva se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

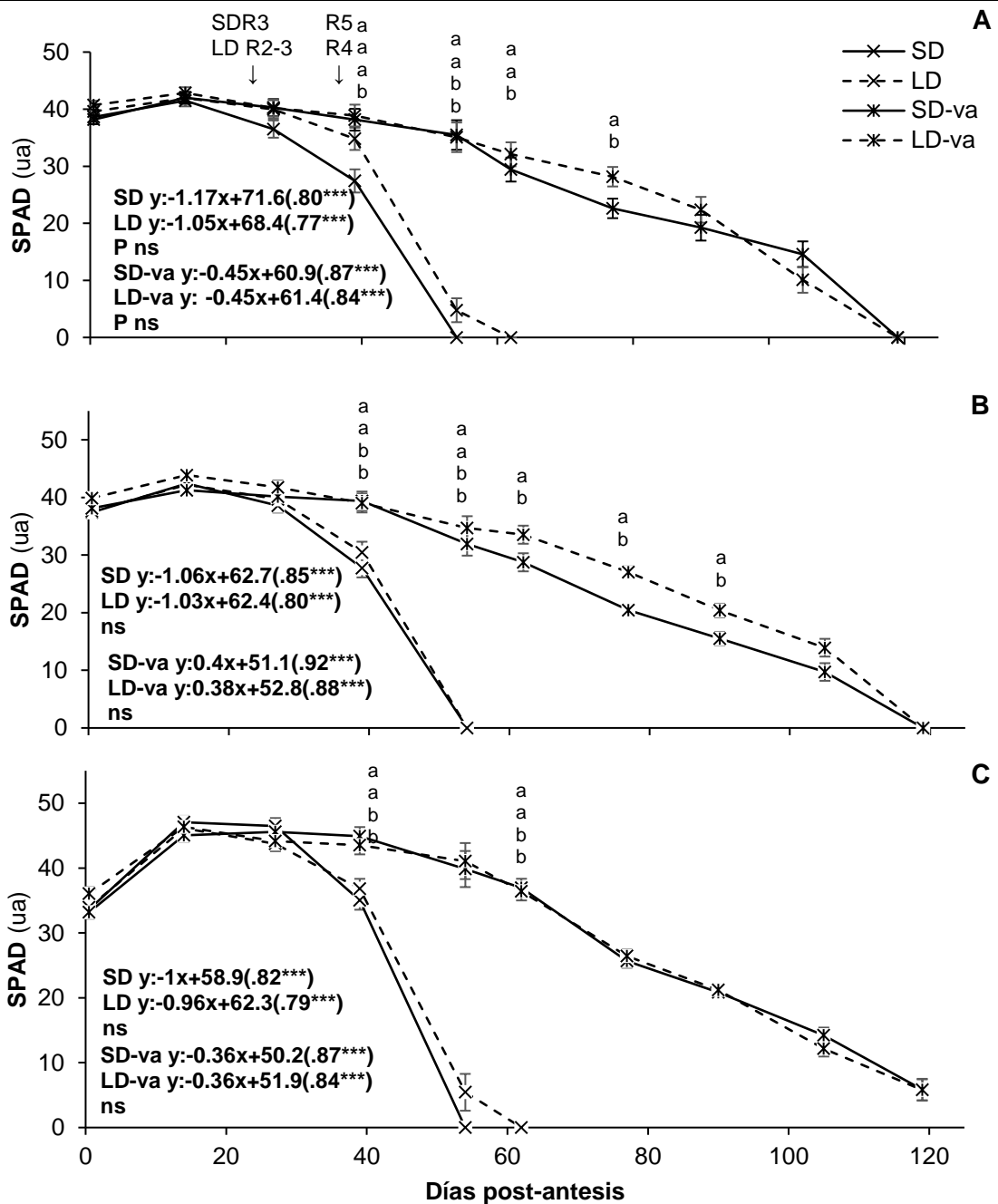


Figura suplementaria 5.6. Degradación de clorofilas foliares (estimada a partir del índice de "verdor" SPAD) en plantas de soja cv. Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) combinado con tratamiento de desfrutado (-va) en post-antesis en el experimento 1 de año 2019. (A) hoja -2, (B) -1 y (C) 0. En la parte superior del gráfico la flecha (\downarrow) indican día de los estadios fenológicos R2- R5 según Fehr & Caviness (1977) para tratamientos con vainas intactas. Las ecuaciones representan la tasa de avance de degradación de las clorofilas (calculada entre en inicio de avance de la degradación y degradación máxima de clorofilas); entre paréntesis () el coeficiente de determinación (R^2) y la probabilidad de relación nula entre variables para cada tratamiento; Debajo de las ecuaciones se representa la probabilidad (P) de diferencia significativa entre tratamientos (SD vs LD, SD-va vs LD-va). Los asteriscos *, ** y *** denotan la probabilidad de diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos. La barra (I) representa el error estándar (SE) de la media; en caso de no observarse en el gráfico se debe a que el valor del SE es pequeño y cae dentro del símbolo de la media. Diferentes letras representan diferencias entre tratamientos a $P < 0.05$ según Test de Fisher.

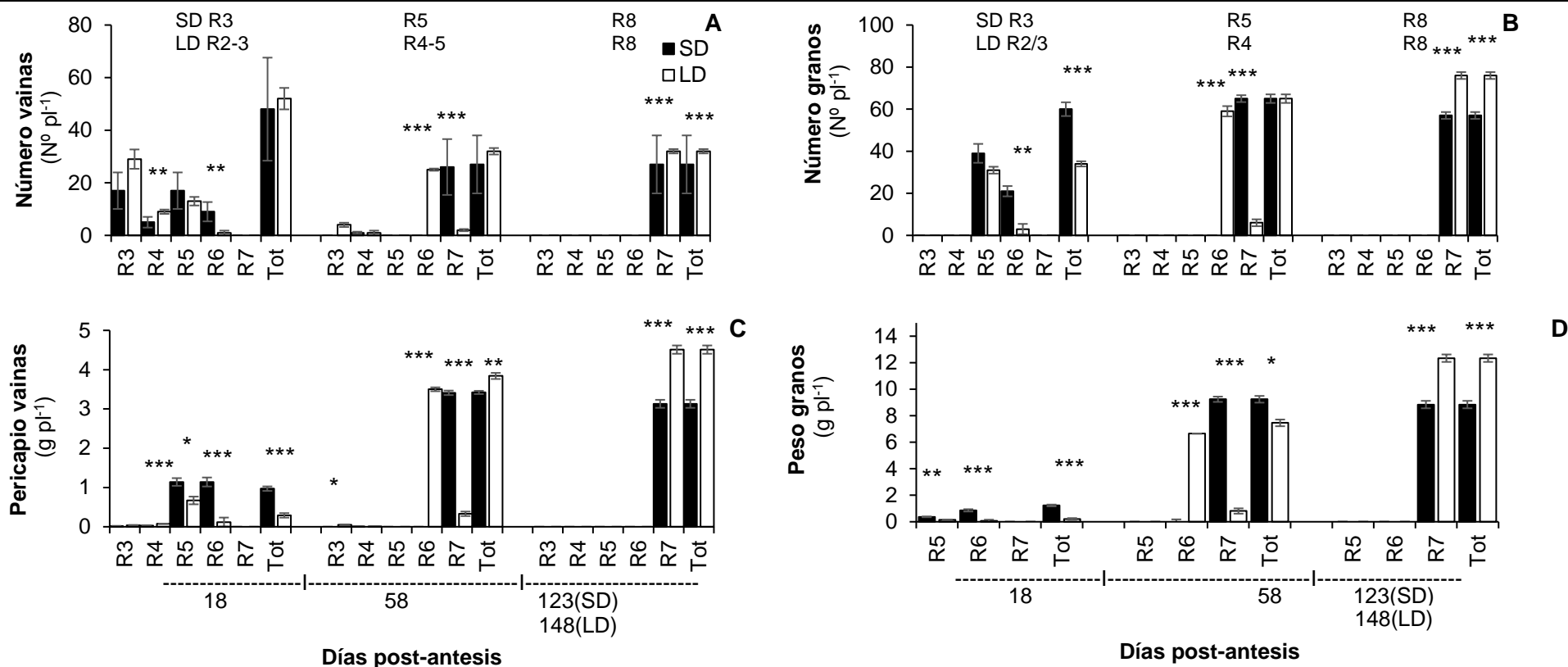


Figura suplementaria 5.7. Número de vainas, granos y peso de perigonios de vainas y granos de diferentes estadios de desarrollo en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post- antesis en experimento 1 del año 2018. (A) número de vainas, (B) número de granos, (C) peso de perigonios y (D) peso de granos. Los estadios de desarrollo se determinaron siguiendo la escala de Fehr y Caviness (1977). Total (Tot) es el conjunto de las vainas y granos (indistintamente de su desarrollo) en un tiempo de muestreo. En la parte superior del gráfico R1-R8 indican los estadios fenológicos en que se encontraban las plantas en los diferentes tiempos de muestreos. Los muestreos intermedios (18 y 58 días post-antesis, dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (R8) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media. La sigla “pl” corresponde a planta.

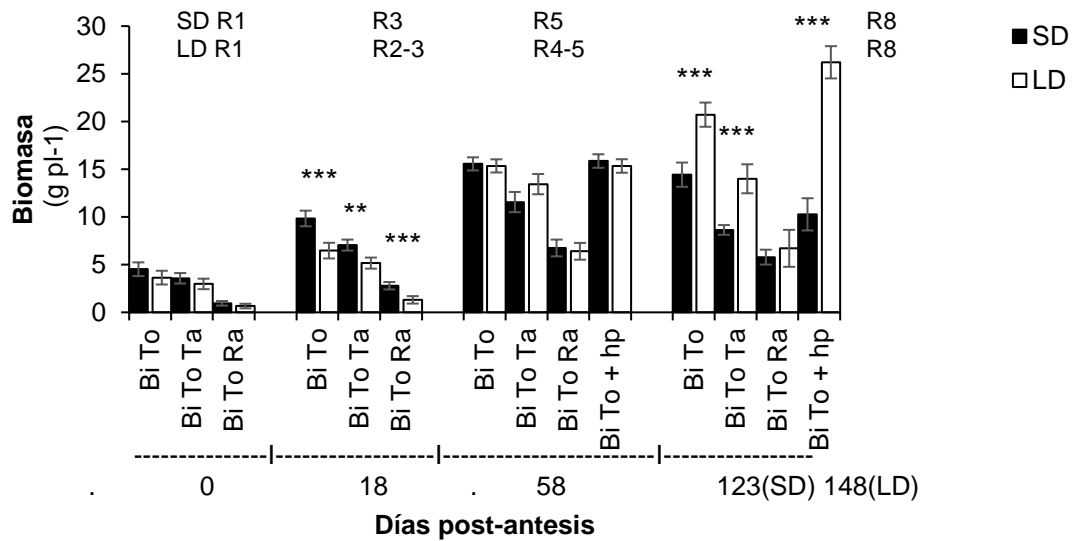


Figura suplementaria 5.8. Biomasa total por planta (To), asociada a tallo principal (Bi To Ta) y a las ramificaciones (Bi To Ra) en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post- antesis en experimento 1 del año 2018. La biomasa total incluye biomasa vegetativa (peso de tallo principal, ramificaciones, láminas foliares y pecíolos) y biomasa reproductiva (peso de granos y pericarpios de vainas); la biomasa abscindida (hp) incluye láminas foliares y pecíolos. En la parte superior del gráfico R1- R8 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los muestreos iniciales (0 días post-antesis, dpa) e intermedios (18 y 58 dpa) se realizaron a los mismos dpa entre tratamientos; en cambio el muestreo final se realizó alcanzado la madurez de cosecha (R8) por lo que difieren en los dpa en que se realizó entre tratamientos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media. La sigla "pl" corresponde a planta.

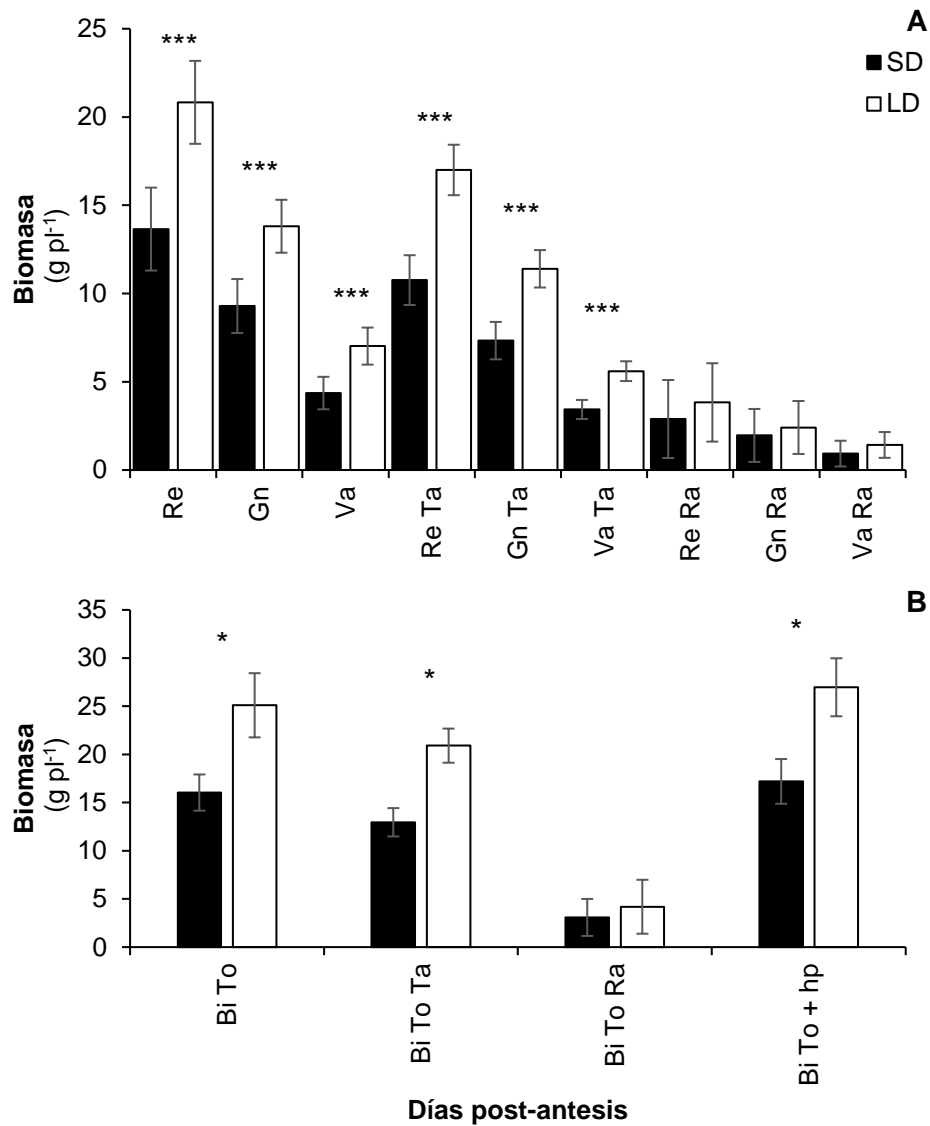


Figura suplementaria 5.9. Biomasa reproductiva (Re), de granos (Gn), de pericarpios de vainas (Va), total (Bi To) por planta, asociado a tallo principal (Ta) y a ramificaciones (Ra) en plantas de soja cv. Williams 82 a madurez de cosecha (R8) expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento 1 del año 2019. (A) Biomasa reproductiva, de granos, de pericarpios de vainas y (B) biomasa total. La Biomasa reproductiva incluye peso de granos y pericarpio de vainas; la biomasa total incluye biomasa vegetativa (peso de tallo principal, ramificaciones, láminas foliares y pecíolos) y biomasa reproductiva (peso de granos y pericarpios de vainas); la biomasa abscindida (hp) incluye láminas foliares y pecíolos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media. La sigla "pl" corresponde a planta.

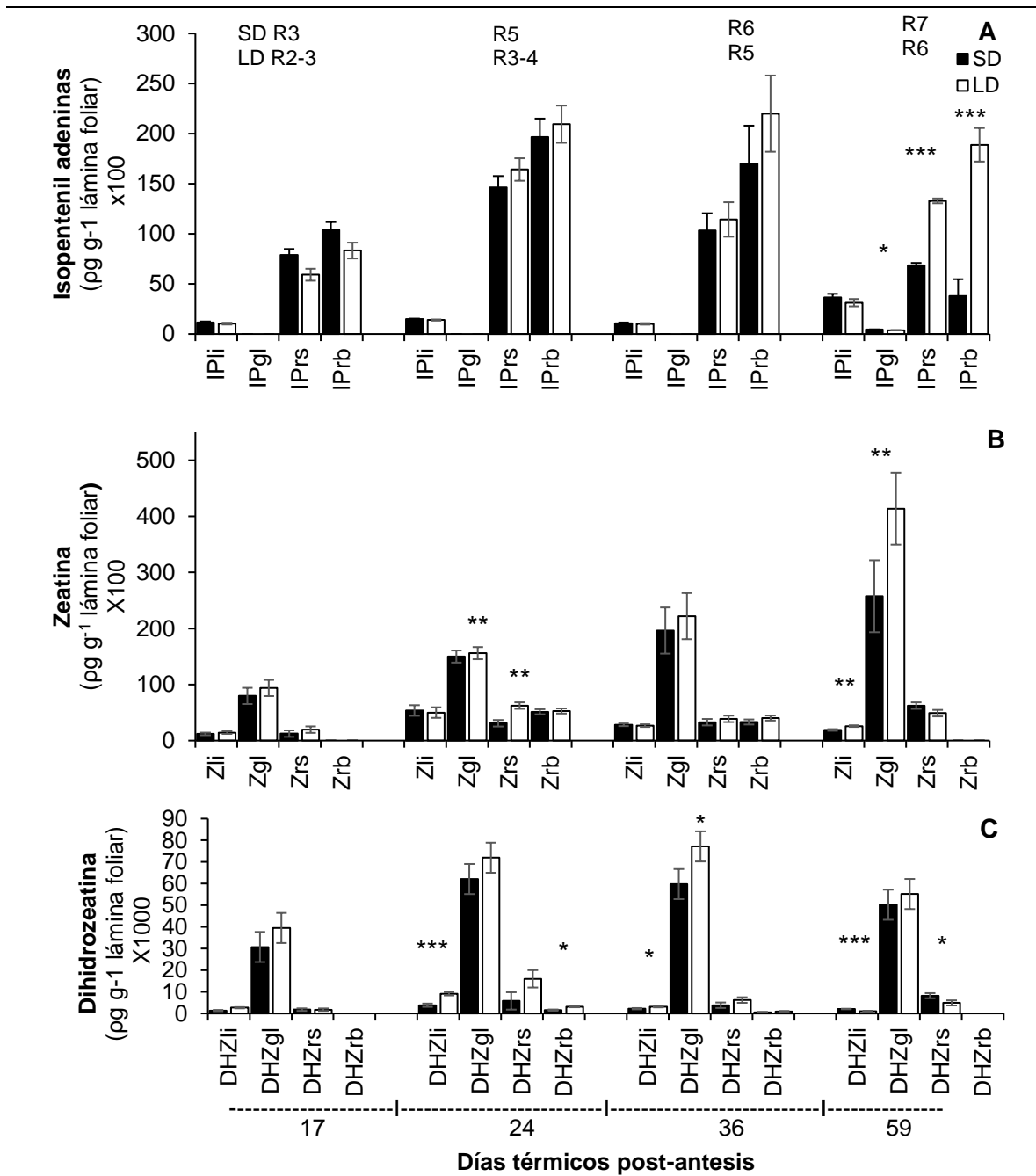


Figura suplementaria 5.10. Contenido de Isopentenil adenina (IP), Zeatina (Z), e Dihidrozeatina (DHZ) en láminas foliares en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en el experimento de campaña 2018-19. (A) Isopentenil adeninas, (B) Zeatinas y (C) Dihidrozeatinas. Los datos corresponden a la concentración de citocininas en su forma de bases libres (li), glucosiladas (gl), ribosidos (rs) y ribotidos (rb). En la parte superior del gráfico R2-R7 indican los estadios fenológicos según escala de Fehr y Caviness (1977) para SD y LD. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente. La barra (I) representa el error estándar de la media.

Tabla suplementaria 5.1. Duración del período siembra – antesis (R1) y antesis – madurez de cosecha (R8) en plantas de soja cv. NS4619 y Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SDSD) y largo (LDLD) durante todo el ciclo de vida de la planta en experimento 1 de los años 2018 y 2019.

Año	Cultivar	Tratamiento	Duración Siembra –R1 (d)	Duración R1 – R8 (d)
2018	NS4619	SDSD	46	123
		LDLD	85	119
2019	Williams 82	SDSD	38	63
		LDLD	76	118

El estadio fenológico R1 (antesis) y R8 (madurez de cosecha) se determinó según escala de Fehr & Caviness (1977).

Tabla suplementaria 5.2. Número de nudos del tallo principal, número de ramificaciones, y área foliar de tallo principal y ramificaciones a los 0, 18 y 58 días post-antesis (dpa) en plantas de soja cv. NS4619 expuesta a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) en post- antesis en el experimento 1 del año 2018.

Cultivar	Días Post-antesis (d)	Tratamiento	Número de nudos (Nº pl ⁻¹)	Número de ramificaciones (Nº pl ⁻¹)	Área foliar del tallo principal (cm ² pl ⁻¹)	Área foliar de ramificaciones (cm ² pl ⁻¹)	
NS4619	0	SD	9	2	587.6	216.3	
		LD	9	3	560.9	201.8	
	18	SD	ns	ns	ns	ns	
		LD	13	3	804.9	301.0	
	58	SD	13	4	817.6	299.3	
		LD	ns	ns	ns	ns	
	58	SD	12	4	587.4	235.1	
		LD	14	5	832.4	442.0	
				*	ns	*	*

*El muestreo inicial se realizó a los 0 días post-antesis (dpa) que se corresponde según escala fenológica de Fehr & Caviness (1977) con antesis (R1). Los muestreos intermedios fueron realizados a los 18 y 58 dpa. Los 18 dpa se corresponden a R3 y R2-3 para SD y LD respectivamente; mientras que los 58 dpa para R5 y R4-5 para SD y LD respectivamente. La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.*

Tabla suplementaria 5.3. Partición de biomasa en semillas y en biomasa reproductiva en diferentes días post-antesis (dpa) de muestreo en plantas de soja cv. NS4619 y Williams 82 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento 1 de los años 2018 y 2019.

Año Cultivar	Días Post- antesis (d)	Tratamiento	Peso de semilla / Biomasa total	Biomasa reproductiva/ Biomasa total	Peso de semilla/ Biomasa total + abscindida	Biomasa reproductiva / Biomasa total + abscindida
2018						
NS4619	18	SD	0.13	0.36	0.13	0.36
		LD	0.03	0.17	0.03	0.17
			***	***	***	***
	58	SD	0.59	0.81	0.58	0.80
		LD	0.48	0.73	0.48	0.73
			**	***	**	***
123	SD	0.61	0.83	0.46	0.62	
148	LD	0.60	0.81	0.47	0.64	
			ns	ns	ns	ns
2019						
Williams 82	62	SD	0.58	0.85	0.54	0.80
		LD	0.55	0.83	0.51	0.77
	77			ns	ns	ns

En el cv. NS4619 los muestreos realizados a los 18, 58 dpa se realizaron previo a madurez de cosecha; los 18 dpa se corresponden a R3 y R2-3 para SD y LD respectivamente según escala fenológica de Fehr & Caviness (1977); mientras que los 58 dpa para R5 y R4-5 para SD y LD respectivamente; En cv. NS4619 los 123 y 148 dpa, y en cv. Williams 82 los 62 y 77 dpa se corresponden al muestreo final realizado madures de cosecha (R8). La Biomasa total incluye biomasa reproductiva y vegetativa; la biomasa reproductiva incluye peso de semillas y peso de pericarpios de vainas; la biomasa abscindida incluye peso de láminas foliares y pecíolos. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.

Figura Suplementaria 5.4. Tasa de crecimiento relativo (RGR) y tasa de de crecimiento de absoluto (AGR) en el período comprendido entre antesis (R1), 18, 58 días post-antesis (dpa) y madurez de cosecha (MC, R8) en plantas de soja cv. NS4619 expuestas a tratamiento fotoperiódico de día corto (SD) y largo (LD) durante post-antesis en experimento 1 de los años 2018.

Cultivar	Tratamiento	Antesis -18 dpa		18-58 dpa				58 dpa – MC			
		RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	RGR + hp (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	AGR +hp (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	RGR + hp (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	AGR (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)	AGR +hp (mg pl ⁻¹ d ⁻¹)
NS4619											
	SD	48.7	320.0	11.1	12.1	142.8	150.5	0	2.9	0	52.4
	LD	25.3	130.2	21.6	22.2	221.9	221.9	3.1	5.9	59.7	120.7
		***	***	**	***	**	**	**	**	***	***

RGR y AGR no considera la biomasa abscindida, y RGR + hp y CGR + hp considera la biomasa abscindida (hp); la biomasa abscindida incluye peso de láminas foliares y pecíolos. En el período antesis - 18 dpa no existió biomasa "abscindida". Antesis y MC se corresponden a R1 y R8 respectivamente según escala fenológica de Fehr & Caviness (1977); los 18 dpa se corresponden a R3 y R2-3 para SD y LD respectivamente; mientras que los 58 dpa para R5 y R4-5 para SD y LD respectivamente. La sigla "pl" corresponde a planta. Los asteriscos *, ** y *** denotan diferencias estadísticamente significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente, y ns ausencia de diferencia estadísticamente significativa.