



Universitat
de les Illes Balears

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

Gramíneas polares y cultivadas frente al estrés: La inversión de recursos como mecanismo de supervivencia

Jose Enrique Cornejo Toledo

Máster Universitario en Biotecnología aplicada

(Especialidad/Itinerario *Medio Ambiente*)

Centro de Estudios de Postgrado

Año Académico 2020-21

Gramíneas polares y cultivadas frente al estrés: La inversión de recursos como mecanismo de supervivencia

Jose Enrique Cornejo Toledo

Trabajo de Fin de Máster

Centro de Estudios de Postgrado

Universidad de las Illes Balears

Año Académico 2020-21

Palabras clave del trabajo:

Oryza sativa, Poa pratensis, Deschampsia antarctica, radicación ultravioleta B, sequía, estrés, fluorescencia de la clorofila, pigmentos fotosintéticos.

Nombre Tutor/Tutora del Trabajo Jorge Gago

Nombre Tutor/Tutora (si procede) Jaume Flexas

Índice

Abreviaturas	4
Resumen	5
Abstract	5
Introducción	6
Material y métodos	8
Resultados	17
Discusión	29
Conclusión	31
Agradecimientos	31
Referencias	32
Anexo	39

Abreviaturas

Ant: antocianos

Chl: clorofila

CHR: contenido hídrico relativo

Da: Deschampsia antarctica

ETR: tasa de transporte de electrones

Flav: flavonoides

Fm: fluorescencia máxima

Ft: fluorescencia estable

Fv: fluorescencia variable

IPCC: Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático

LMA: masa foliar por área

NBI: índice de balance de nitrógeno

Os: Oryza sativa

PAR: radiación fotosintéticamente activa

Pf: peso fresco

PhiPSII: rendimiento cuántico del fotosistema II

Pp: Poa pratensis

Ps: peso seco

PSII: fotosistema II

Pt: peso turgente

ROS: especies reactivas del oxígeno

UV: ultravioleta

UV-B: ultravioleta tipo B

WS NO-UV: Sequía, No ultravioleta

WS UV: Sequía, Ultravioleta

WW NO-UV: Riego, No ultravioleta

WW UV: Riego, Ultravioleta

Resumen

La sequía y la radiación UV-B son dos de las principales perturbaciones ambientales que pueden activar o suprimir las respuestas de defensa de las plantas. Lo que está poco claro es cómo estas perturbaciones, tanto por separado como combinadas, afectan a las plantas. Por ello, se estudiaron los efectos de la sequía y la radiación UV-B y su interacción en una gramínea cultivable: *Oryza sativa* (Os), y dos gramíneas polares: *Poa pratensis* (Pp) del alto Ártico y *Deschampsia antarctica* (Da), proveniente del Antártida. El objetivo de este estudio fue comprender la respuesta al estrés a nivel de estructura y producción de pigmentos fotosintéticos y de fotoprotección.

Para determinar el grado de estrés de las plantas se utilizó la fluorescencia de la clorofila y su parámetro de rendimiento cuántico del *PSII* (*PhiPSII*) como indicadores del estatus fisiológico mediante un fluorímetro. Las plantas de Os mostraron una rápida susceptibilidad a la radiación UV-B. En cambio, las plantas de Pp y Da no mostraron efectos por la radiación UV-B, sino por la sequía. No se observó efectos de la interacción sequía – UV en ninguna de las especies estudiadas.

Abstract

Drought and UV-B radiation are two of the main environmental disturbances that can activate or suppress the defense responses of plants. What is unclear is how these disturbances, both individually and in combination, affect plants. Therefore, the effects of drought and UV-B radiation and their interaction were studied in a cultivable grass: *Oryza sativa* (Os), and two polar grasses: *Poa pratensis* (Pp) from the high Arctic and *Deschampsia antarctica* (Da), from from Antarctica. The objective of this study was to understand the response to stress at the level of structure and production of photosynthetic pigments and photoprotection.

To determine the degree of stress in the plants, the fluorescence of chlorophyll and its quantum yield parameter of *PSII* (*PhiPSII*) were used as indicators of the physiological status employing a fluorimeter. Os plants showed a rapid development of susceptibility to UV-B radiation. In contrast, the Pp and Da plants did not show effects from UV-B radiation but from drought. No effects of the drought – UV interaction were observed in any of the species studied.

Introducción

Las plantas se enfrentan continuamente a condiciones ambientales cambiantes y, por lo tanto, necesitan adaptar su morfología, fisiología y metabolismo para sobrevivir. Estas condiciones incluyen estrés biótico, como el ataque de patógenos y/o la herbivoría, deficiencia de nutrientes y estrés abiótico, como calor, frío, sequía, salinidad del suelo, etc. (Zhu, 2016). El estrés abiótico puede dañar el crecimiento y la productividad de las plantas, que son de gran importancia agrícola (Jorge et al., 2016). El cambio climático reciente agrava aún más el problema, que se prevé que provocará una mayor frecuencia de condiciones meteorológicas extremas, lo que podría provocar condiciones de estrés abiótico más dramáticas (Zhu, 2016).

Por otro lado, el cambio climático conduce a cambios en los patrones de lluvia, lo que provocará períodos secos prolongados, pero también un aumento en la ocurrencia e intensidad de lluvias intensas (IPCC, 2014). Por lo tanto, las plantas tendrán que hacer frente con más frecuencia al estrés ambiental, a través de su alta plasticidad y diferentes mecanismos de protección.

El estrés por sequía es uno de los principales estreses abióticos para las plantas en todo el mundo (Li et al., 2014; Muscolo et al., 2015), que afecta todos los niveles de organización de la planta, desde el metabolismo celular hasta la morfología (Aroca, 2012.; Khan y Khan, 2017). Relación de biomasa raíz/brote, número de hojas, área foliar, relación masa foliar por área (LMA), tamaño de hoja y actividad de enzimas fotosintéticas (principalmente actividad Rubisco) (Bota et al., 2004; Pallardy y Kozlowski, 2008; Aroca, 2012; Fathi y Tari, 2016) pueden cambiar durante el estrés por sequía. El estrés por sequía provoca un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su eliminación, lo que conduce a estrés oxidativo en las células vegetales.

Los cambios climáticos han existido desde el inicio de la historia de la Tierra, han sido graduales o abruptos y se han debido a causas diversas, como los cambios en los parámetros orbitales, la deriva continental, períodos de vulcanismo intenso, procesos bióticos, impactos de meteoritos o variaciones de la radiación solar. Esta radiación solar es esencial para la vida en la Tierra, ya que dirige el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y acuáticos a través del control de procesos fotobiológicos como la fotosíntesis, el fotoperíodo, etc. Las plantas utilizan la luz solar para regular procesos como la germinación, el desarrollo, el ritmo circadiano y la floración (Müller-Xing et al., 2014). Además, la radiación solar, también dirige otros factores ambientales como la temperatura y la humedad.

Sin embargo, la radiación solar a altas intensidades puede ser perjudicial para los organismos. Estas altas intensidades de radiación pueden afectar importantes procesos en los organismos, en particular en los vegetales, que al presentar una forma de vida sésil, sólo les queda adaptarse a tales cambios. La radiación ultravioleta (UV), que forma parte de la radiación solar, es un componente de alta

energía al que las plantas deben responder. Algunas de estas respuestas implican cambios en la morfología, fisiología y producción de metabolitos secundarios de las plantas (Dotto y Casati, 2017).

La radiación UV comprende el rango espectral de entre 100 – 400 nm, y dentro de este rango espectral se puede diferenciar en tres regiones: UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) y UV-C (100-280 nm). La radiación UV-C es extremadamente dañina, pero es absorbida por el ozono de la atmósfera, por lo tanto, no llega a la superficie de la tierra. La radiación UV-A alcanza la superficie terrestre casi en su totalidad y constituye una importante señal fotomorfogénica en las plantas. Por último, la radiación UV-B es absorbida en su gran mayoría por la capa de ozono, aunque cuando llega a la superficie su acción sobre plantas y animales es considerable. Numerosos son los efectos atribuibles a esta radiación, la cual ha estado desde siempre presente en el ambiente (Caldwell et al., 1983). Así, las plantas desde temprano en su evolución han debido adaptarse a su presencia y desarrollar mecanismos capaces de disminuir sus efectos adversos. Por tal motivo, desde el descubrimiento del denominado “agujero” de ozono, el interés por estudiar los principales efectos de la radiación UV-B sobre los vegetales ha aumentado considerablemente.

La sequía y la radiación UV han sido dos factores de estrés ambientales que afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas. Además, el estrés por sequía suele ir acompañado de un aumento de la radiación UV-B (Adams et al., 2009; Taalas et al., 2000; Ballare et al., 2011; Prado et al., 2012; Bandurska et al., 2013). Estudios previos que examinaron los efectos del aumento de la radiación UV-B y el estrés por sequía han encontrado que ambos desencadenan mecanismos de defensa similares con efectos negativos sobre la morfología, los procesos fisiológicos y la acumulación de biomasa (Bandurska et al., 2013).

Las respuestas negativas asociadas con cada estrés individualmente se pueden modificar cuando ambos estreses ocurren simultáneamente. En algunos casos, pueden generar efectos aditivos o exacerbados sobre el crecimiento en comparación con cada estrés aplicado por separado. En otros casos, los efectos sobre el crecimiento pueden ser menores que cada uno aplicado por separado, quizás porque las respuestas de defensa activadas por un estrés ayudan a reducir la gravedad del otro estrés (Bandurska et al., 2013; Suzuki et al., 2014).

Los estreses abióticos afectan con mayor intensidad en las regiones donde se ubican la mayoría de países en desarrollo y cuyas economías son más dependientes de la agricultura (CEPAL, 2010). Este hecho viene acompañado de un notable crecimiento en la demanda de los alimentos y recursos. Satisfacer dicha demanda para abastecer a toda la población obliga a incrementar los volúmenes de producción agrícola año tras año. Según la FAO (2009) para el 2050 la población humana requerirá un aumento del 70% en la producción agrícola mundial (Bruulsema, et al., 2012). Para lograr este objetivo, se podría

cultivar en zonas no tradicionales con régimen climático más complicado o aumentar la productividad por superficie (Faggioli, et al., 2003).

Esta última alternativa se presenta como el método más conveniente a causa de la limitada disponibilidad de terreno y sobre todo a la carencia de recursos para cultivar. El objetivo del aumento en la productividad se ha logrado gracias al estudio fisiológico de respuesta de las plantas frente al estrés abiótico y cómo, en algunos casos, esas respuestas se traducen en tolerancia al estrés y estrés biótico como los patógenos (Chaves, Flexas y Pinheiro, 2009).

Por lo tanto, para lograr enfrentarse a esta gran demanda agrícola debemos cultivar en zonas no tradicionales, como por ejemplo en los desiertos polares. Este último hecho, nos lleva a conocer la ecofisiología de las plantas polares, la cual ayudaría a comprender las respuestas fisiológicas y sus vías metabólicas cuya finalidad podría promover la generación de nuevas herramientas biotecnológicas (de Abreu e Lima et al., 2017).

Por estos motivos, resulta interesante estudiar cómo las plantas responden frente a los estreses abióticos, permitiría comprender la estabilidad en el rendimiento de los cultivos en estas condiciones, por tanto, este estudio tuvo como objetivo, estudiar la respuesta frente a dos diferentes estreses a un rango de nivel estructural (masa foliar por área) y de inversión de recursos (compuesto fenólicos) comparando dos grandes especialistas de climas fríos como *Deschampsia antártica* (*Da*), extraída de la Antártida (Isla Rey Jorge) y *Poa pratensis* (*Pp*), extraída del Ártico (Islas Svalbard) que presenta una gran plasticidad y por ello es una gran invasora distribuida por varias zonas del planeta (Frenot, et al., 2005), en comparación a las dos gramíneas polares, se utilizó uno de los cultivo más importantes *Oryza sativa* (arroz) variedad Bomba, proporcionada por el Doctor Xiong.

Material y métodos

Descripción de especies

Oryza sativa L. (Arroz)

Oryza sativa (*Os*), nombre científico del arroz (figura 1), es una especie perteneciente a la familia de las poáceas, cuya semilla es comestible y constituye la base de la dieta de casi la mitad de la población mundial. Es el segundo cereal más producido en el mundo, detrás del maíz. Comenzó a cultivarse simultáneamente en varios países hace más de 8 milenios (Callaway, 2014). Dos especies de arroz se domesticaron, el arroz asiático (*Oryza sativa*) y el africano (*Oryza glaberrima*) (Linares, 2002).

El arroz es una planta anual con tallos de 40 – 150 cm de alto. El arroz necesita para germinar un mínimo de 10 a 13 °C, considerándose su óptimo entre 30 y 35

°C. Por encima de los 40°C no se produce la germinación. El crecimiento del tallo, hojas y raíces tiene un mínimo de 7° C, considerándose su óptimo en los 23 °C. Con temperaturas superiores a ésta, las plantas crecen más rápidamente, pero los tejidos se hacen demasiado blandos, siendo más susceptibles a los ataques de enfermedades (Hitchcock, 1951).

En este estudio se utilizó *Oryza sativa* (arroz) variedad Bomba, proporcionada por el Doctor Xiong.



Figura 1: *Oryza sativa* (Os) en el laboratorio de Fisiología Vegetal en las instalaciones de la UIB.

***Poa pratensis* L. (Poa de los prados)**

Poa pratensis (*Pp*), de nombre común poa de los prados, es una especie perteneciente a la familia de las poáceas. Es una planta perenne originaria de Europa y Asia naturalizada en diversas regiones templadas del planeta, aunque también, se encuentra en ambos polos (Frenot, et al., 2005). Tolera muy bien el frío y las heladas, en condiciones de intenso calor se paraliza su crecimiento.

Poa pratensis es una planta herbácea perenne con fuerte capacidad regenerativa, alta fecundidad, resistencia al frío, tolerancia a la sequía y rápida colonización. Prefiere condiciones de buena iluminación, aunque también condiciones umbrías (Pertierra, et al., 2013) (figura 2). Se utiliza en todo el mundo como césped y cultivo forrajero de zonas templadas.

Poa pratensis germina con mayor capacidad cuando las condiciones son favorables de entre 10 – 20 °C, por debajo o encima de estas temperaturas, *Pp* es incapaz de producir semillas. *Poa* de los prados crece de 30 a 60 cm (ocasionalmente hasta 90) de alto. El desarrollo de los tallos, las hojas y raíces tiene amplio rango temperamental de entre 10 a 20 °C, aunque esta hierba al presentar una gran plasticidad puede soportar los ambientes de los polos (Arroyo et al., 1992).

En este estudio se utilizaron plantas de *Poa pratensis* extraídas del Ártico (Islas Svalbard).



Figura 2: *Poa pratensis* (*Pp*) en el laboratorio de Fisiología Vegetal en las instalaciones de la UIB.

***Deschampsia antarctica* Desv. (Pasto antártico)**

Deschampsia antarctica (*Da*), nombre común pasto antártico, es una especie perteneciente a la familia de las poáceas. Es una de las dos únicas plantas vasculares nativa de la Antártida, la otra es *Colobanthus quitensis*. Además, está extendida en regiones templada de los ambos hemisferios y en zonas altas de los trópicos, siendo capaz de colonizar diferente tipo de suelos (Ruhland y Krna, 2010) (figura 3).

Esta planta forma comunidades en las duras condiciones ambientales que presenta la Antártida, además presenta resistencia a las radiaciones ultravioletas (Ruhland y Day, 2000). Esta especie, con el aumento de la de temperatura, produce un aumento de semillas que germinan creando un gran número de comunidades (Convey, 1996).

La germinación de *Da* dependerá de la temperatura, ya que, cada vez que hay pequeños aumentos de temperatura, mayor número de semillas germinarán. El

crecimiento de *Da* se da a una temperatura media de 4 °C, aunque, el pasto antártico es capaz de crecer a temperaturas de hasta 15 °C. (Greene y Holton, 1971).

En este estudio se utilizaron plantas de *Deschampsia antarctica* extraídas de la Antártida (Isla Rey Jorge).



Figura 3: *Deschampsia antarctica* (*Da*) en el laboratorio de Fisiología Vegetal en las instalaciones de la UIB.

Condiciones de crecimiento

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio del área de Fisiología Vegetal de la Universidad de las Islas Baleares (UIB). Se utilizó la cámara de crecimiento adaptada para el desarrollo de especies polares que se encuentra dentro del laboratorio de fisiología vegetal.

Para la realización de este experimento se utilizaron: una especie gramínea cultivable, *Oryza sativa* (*Os*) variedad Bomba, y dos gramíneas que pueden vivir en los polos, *Poa pratensis* (*Pp*) y *Deschampsia antarctica* (*Da*).

El experimento se llevó a cabo el 21 de abril de 2021, y se comenzó germinando las semillas de *Os*. En cambio, *Pp* y *Da* se propagaron vegetativamente. Las tres gramíneas se colocaron en macetas, con un volumen de 1 litro, con una mezcla sustrato (Sustrato Prohumín 70 L) y perlita (Perlita 100L Projar) de proporción 3:1 respectivamente.

Las plantas se colocaron en una cámara de crecimiento a temperatura de 15 °C y con intensidad PAR de 150 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ver figura 4).

Las plantas de *Os* se regaron cada 2 días, las plantas de *Pp* se regaron cada 3 – 4 días y las plantas de *Da* se regaron cada 4 – 5 días. Se aplicó fertilizante Hoagland al 50% (Hoagland y Arnon, 1950) 1 vez a la semana, hasta el comienzo del experimento.



Figura 4: Cámara de crecimiento a 15°C donde se encuentran las 3 gramíneas.

En este estudio, se aplicó una dosis de $51,5 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (ver Tabla 1), sabiendo el periodo de exposición de 6,5 horas, a una distancia de unos 40 cm, se midió la intensidad con el espectroradiómetro (Macam SR9910-V7), posteriormente, multiplicando la intensidad por las horas se obtiene la dosis.

La dosis para este estudio se estableció a través de revisiones bibliográficas, en las que se han revisado publicaciones relacionadas con la radiación UV para las tres especies utilizadas en este estudio (anexo 1).

Diseño experimental

Para el diseño experimental de este estudio se utilizaron dos factores: el agua y la radiación UV. Por lo tanto, el diseño experimental consistió en 4 diferentes tratamientos. El tratamiento control donde se regaron las plantas y no se irradiaron con UV (*WW NO-UV*); en el segundo tratamiento se regaron las plantas y se irradiaron con UV (*WW UV*); en el tercer tratamiento se dejaron las plantas en sequía y no se irradiaron con UV (*WS NO-UV*); y en el último tratamiento se dejaron las plantas en sequía con radiación UV (*WS UV*) (Tabla 1).

Tabla 1: Factores estudiados y tratamientos aplicados a las tres especies estudiadas.

Tratamientos		Radiación	
		NO radiación UV	Radiación UV
Agua	Riego	<i>WW NO-UV</i>	<i>WW UV</i>
	Sequía	<i>WS NO-UV</i>	<i>WS UV</i>

Para cada tratamiento se utilizaron 6 réplicas biológicas. En total se utilizaron 24 individuos por especie estudiada.

La imposición de los tratamientos empezó el 24 de mayo. Se separaron los tratamientos de riego de los tratamientos de sequía con platos de plásticos.

Factor radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta se realizó con tubo de la marca Philips ULTRAVIOLET-B, modelo TL 40W/12RS. Todas las especies de gramíneas se separaron en dos grupos, un grupo se colocó bajo un filtro 295 nm: MEC 8000003 – METACRILATO SOLARIUM 3MM (Macoglass S.L., Valladolid, España), permitía que atravesara la radiación UV (tratamiento UV) y la luz visible, el otro grupo estaba bajo un filtro 395 nm: PCC O100003 - POLICAR.INCOL. 3MM COMPACTO (Macoglass S.L., Valladolid, España), evitaba que atravesara la radiación UV (tratamiento NO-UV), por tanto, las gramíneas solamente recibían luz visible (ver figura 5). Para todos los tratamientos, se monitorearon las gramíneas hasta observar una baja del 50% del *PhiPSII* respecto al control.



Figura 5: Cámara de crecimiento a 15°C donde se encuentran las 3 gramíneas.

Factor hídrico

Todas las especies de gramíneas se separaron en dos grupos, un grupo se regó con agua y el otro grupo se dejó de regar desde que empezó el experimento hasta que finalizara el experimento.

Para las plantas de tratamiento agua, las plantas de *Os* se regaron cada 2 días, las plantas de *Pp* se regaron cada 3 – 4 días y las plantas de *Da* se regaron cada 4 – 5 días. Se aplicó fertilizante Hoagland al 50% (Hoagland y Arnon, 1950) 1 vez a la semana, durante el experimento.

Para el tratamiento sequía, se dejaron de regar las macetas durante todo el experimento.

Para todos los tratamientos, se monitorearon las gramíneas hasta observar una baja del 50% del *PhiPSII* respecto al control.

Monitorización de los niveles de estrés

La monitorización de los niveles de estrés se llevó a cabo a través de la fluorescencia de la clorofila. La fluorescencia de la clorofila es una técnica muy utilizada para evaluar el efecto de un estrés sobre la actividad fisiológica de la planta (Del y Toivonen, 2003), este método estudia la función del fotosistema II (PSII) y la sensibilidad al daño que puede sufrir por efecto de diferentes estreses (Maxwell y Johnson, 2000).

Para establecer las condiciones de monitoreo de los niveles de estrés, se utilizó la tasa de transporte de electrones (*ETR*). La *ETR* se utilizó para definir la intensidad de luz y el tiempo necesarios para saturar los fotosistemas y poder tomar una medida en condiciones de estado fisiológico estable para cada especie y tratamiento. Para ello, se realizaron curvas de luz y de tiempo en donde se saturó la *ETR*, se utilizó un fluorímetro modulado JUNIOR-PAM (Walz GmbH, Efeltrich, Alemania). Se midió en 6 hojas completamente expandidas por cada especie. Posteriormente a las curvas de luz y de tiempo, se tomaron mediciones, para cada tratamiento, que incluyeron: *fluorescencia variable* (F_v), *fluorescencia máxima* (F_m), *rendimiento del fotosistema II* ($Y(II)$). Usando los parámetros de la fluorescencia variable (F_v) y la fluorescencia máxima (F_m), se realizó la relación de F_v/F_m .

Las curvas de luz se determinaron enganchando la fibra a la hoja de la planta, con el fluorímetro (figura 6), se emitió diferentes intensidades de PAR desde 0 a 1500 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en intervalos de 1 minuto entre cada intensidad PAR, hasta llegar al PAR saturante. Las curvas de tiempo se determinaron, emitiendo el PAR saturante obtenido en las curvas de luz, en intervalos de 1 minuto, hasta que la *ETR* saturara.



Figura 6: Monitoreo de P_p con el fluorímetro JUNIOR-PAM.

Pigmentos fotosintéticos

Un mecanismo de defensa importante contra la radiación UV-B es el aumento de la producción de flavonoides y otros compuestos fenólicos en las capas epidérmicas de las plantas para proporcionar una protección solar que absorbe los rayos UV. Esta respuesta es muy flexible y puede ocurrir en minutos u horas. También puede ocurrir un aumento de la reflectancia en UV-B como un medio para reflejar y, por lo tanto, proteger los tejidos vegetales de los efectos perjudiciales de la absorción de UV-B.

El Dualex (Force-A, Orsay, Francia) permite medir la clorofila y los polifenoles en las hojas. El contenido en clorofila se estima, al igual que SPAD. El contenido en polifenoles se estima a través de la relación de fluorescencias de la clorofila en el infrarrojo, excitada en la banda roja y ultravioleta del espectro (Goulas et al., 2004). Dualex proporciona un índice NBI como relación entre el contenido en clorofila y flavonoides.

Se determinó los parámetros siguientes: NBI (índice de balance del nitrógeno), clorofilas, flavonoides, antocianos, utilizando el Dualex (Force-A, Orsay, Francia) en 6 hojas completamente expandidas tomadas de plantas en cada tratamiento.

Contenido hídrico relativo (CHR)

El CHR es el método más utilizado para medir el nivel de agua en un tejido. Es una medida del contenido de agua respecto al total de agua que este puede almacenar, se expresa como porcentaje y permite conocer el estado hídrico de la planta. Se relaciona con el potencial hídrico porque este y sus componentes

(potencial de presión y de solutos) son función del volumen de agua del protoplasma (Acevedo, 2003).

Para calcular el CHR, se necesitaron los pesos frescos, pesos turgentes y pesos secos de las hojas. Para la obtención del peso fresco, se cogió muestras de hojas y se pesó de inmediato. Para la obtención del peso turgente, las hojas que se utilizaron para la obtención del peso fresco, se introdujeron en bolsitas de plástico, con cierre hermético, en donde había agua destilada y se agitó para que las hojas estuvieran completamente embebidas. Se dejó reposar las muestras de peso turgente durante 24 horas en un frigorífico a 4°C. Para la obtención del peso seco, se utilizaron las hojas del peso turgente y se las introdujo en sobre de papel que posteriormente se guardaría en una estufa a 70°C durante 48 horas.

El contenido relativo de agua se calculó usando la siguiente ecuación:

$$CHR = \frac{P_f - P_s}{P_t - P_s} \times 100$$

Donde P_f es el peso fresco, P_s el peso seco, P_t el peso turgente.

Masa foliar por área (LMA)

La masa foliar por área (LMA) se define como la relación entre la masa de la hoja y el área de la hoja; así siendo el inverso del área foliar específica. El LMA condiciona fuertemente la fotosíntesis de las hojas y la absorción de carbono. Por esa razón, el LMA es un parámetro clave (Bertin y Gary, 1998; Gracia et al., 1999; Wirtz, 2000) Además, es un rasgo principal de la hoja que caracteriza la adaptación de la especie a las condiciones ambientales y sus propiedades ecofisiológicas (Castro-Díez et al., 2000; Green et al., 2003).

Para la determinación del LMA se requiere estimar el área de la superficie (m^2) de cada muestra de hojas, y para ello, se cogieron muestras de hojas de cada tratamiento por especies. Se hizo utilizó una regla como referencia y se realizaron imágenes de las muestras. Se estimó el área foliar utilizando el programa IMAGEJ (Rasband, 1997), el cual marcando los bordes de las hojas se obtiene el área foliar en píxeles y a través de la referencia de 1 cm, extraído de la regla, se puede extrapolar el área foliar en m^2 (Florin et al., 2015).

Además, para la determinación de LMA se requiere el peso seco de las hojas, por ello, se tomaron muestras de las hojas de cada tratamiento y de cada especie y se secaron en una estufa a 70°C durante 48 horas.

El LMA se calculó a través de la siguiente fórmula:

$$LMA = \frac{\text{Peso seco (g)}}{\text{Área foliar (m}^2\text{)}}$$

Estadística

Para realizar la estadística se utilizaron 6 réplicas por cada tratamiento. En total se utilizaron 24 individuos por especies de planta estudiada. Solamente se realizó la estadística en las especies que se encontraron dentro del rango de estrés establecido (50% de *PhiPSII*).

Para los datos de los diferentes parámetros se realizaron Test de normalidad y homogeneidad de varianzas. Posteriormente, para los datos que tuvieron una distribución normal se realizó un ANOVA de 2 factores y un test Post-hoc Bonferroni.

En el caso de que los datos no siguieran una distribución normal, se realizó el Test de Scheirer-Ray-Hare y un test Post-hoc Dunn.

Resultados

Para el establecimiento de las condiciones de monitoreo de los niveles de estrés se realizaron curvas de luz, para las 3 especies, se determinó que la intensidad de luz saturante fue de entre 625 – 820 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, por lo tanto, se estableció como luz saturante una intensidad PAR de 820 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ común para 3 especies (ver Figura 7). Respecto a las curvas de tiempo, a intensidad de luz saturante (820 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), se determinó que el punto de saturación de la *ETR* fue a los 4 minutos, por lo tanto, se estableció un tiempo común para las 3 especies de unos 5 minutos entre cada punto del monitoreo (ver Figura 8).

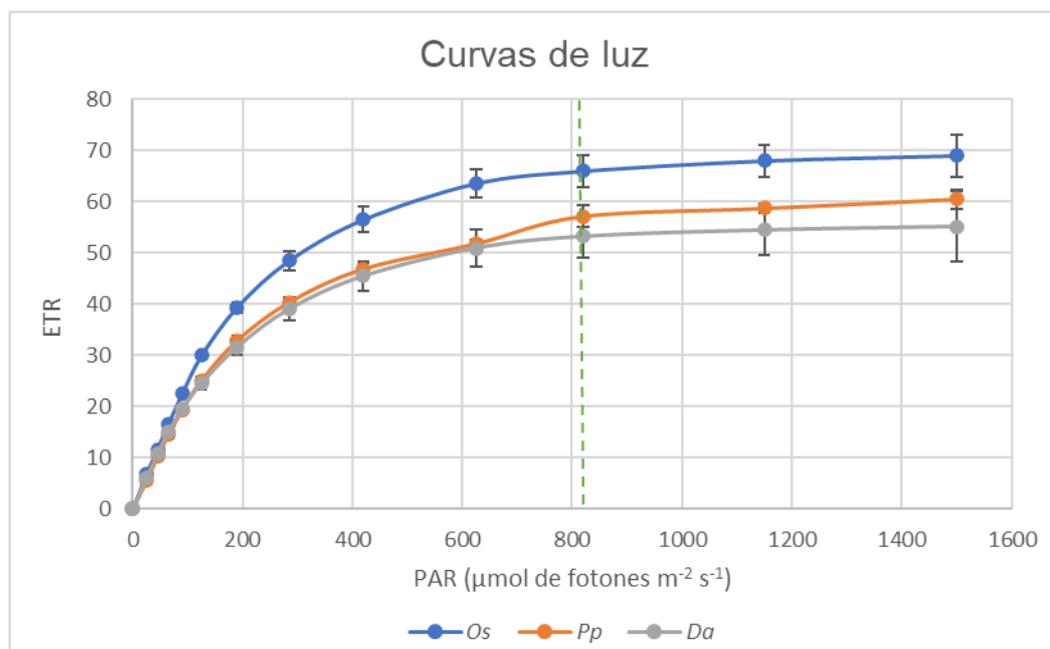


Figura 7: Curva de luz, de las tres especies estudiadas, para obtener la intensidad de PAR saturante. Os: *Oryza sativa*, Pp: *Poa pratensis*, Da: *Deschampsia antarctica*.

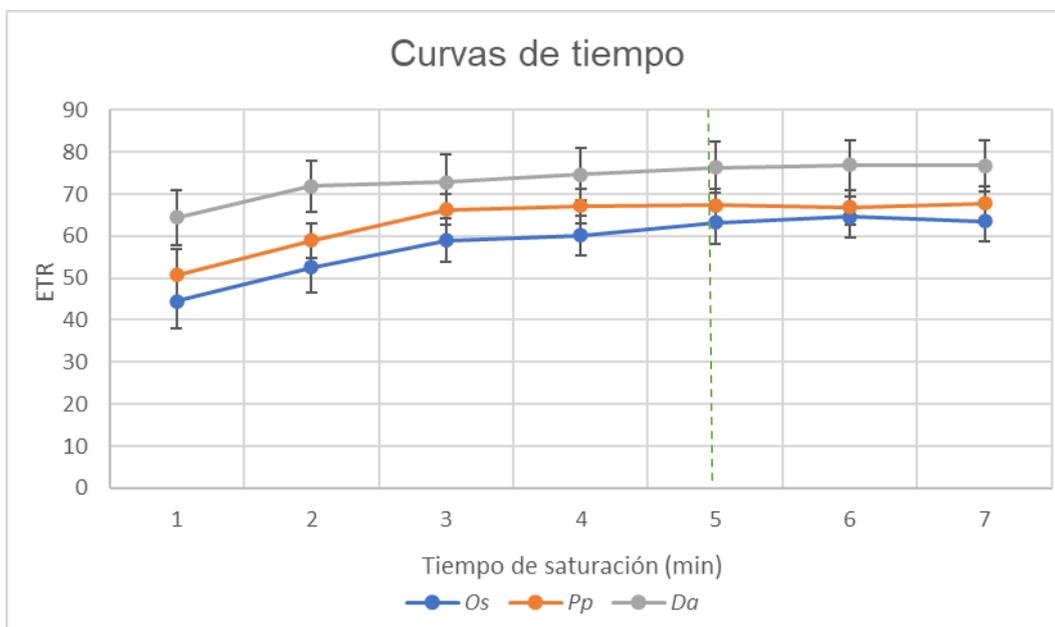


Figura 8: Curva de tiempo, de las tres especies estudiadas, para obtener el tiempo de saturación de la ETR con intensidad de PAR saturante. Os: *Oryza sativa*, Pp: *Poa pratensis*, Da: *Deschampsia antarctica*.

Oryza sativa

El octavo día exposición a la radiación UV-B, se midió todos los parámetros para Os. La radiación UV redujo significativamente los valores de eficiencia del fotosistema II ($p=0,0003$) y los valores en la relación de la fluorescencia variable y máxima ($p=0,0003$) en Os (figura 9 y 10). Esta reducción de la eficiencia del fotosistema II fue de aproximadamente de un 85% en el tratamiento *WW NO-UV*, respecto al tratamiento control. En la relación F_v/F_m se produjo una reducción de aproximadamente de 55% en el tratamiento *WW UV* y un 37% en el tratamiento *WS UV* respecto al tratamiento control. Además, los tratamientos, para ambos parámetros no se vieron afectados por el efecto de la sequía ni por la interacción de ambos factores (figuras 9 y 10).

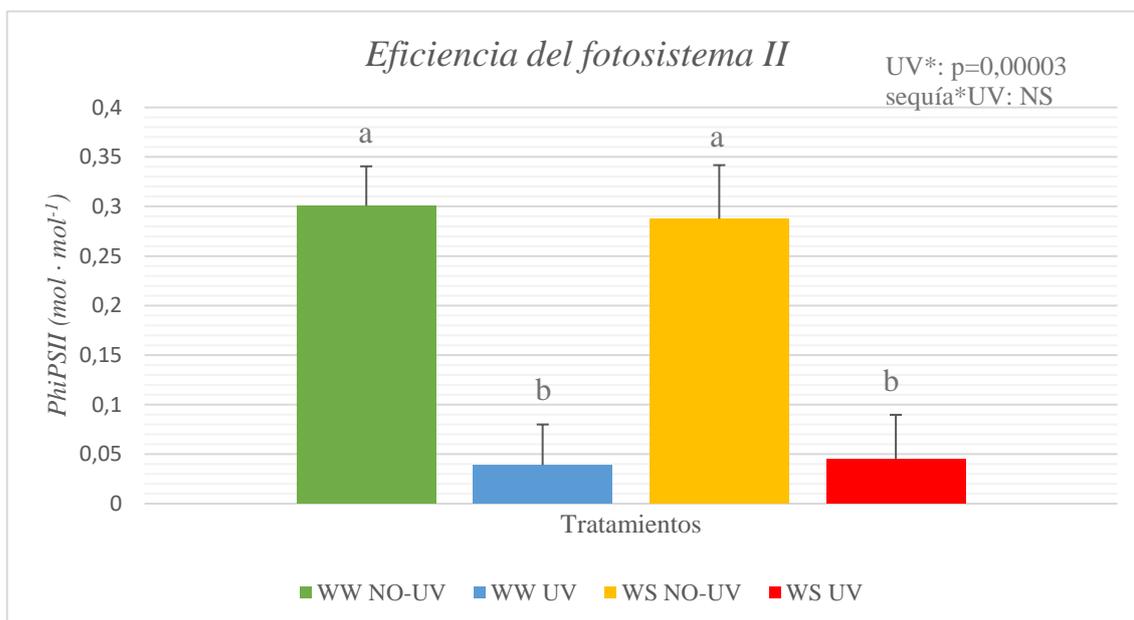


Figura 9: Eficiencia del fotosistema II (Φ_{PSII}) de plantas de *Os*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$. NS: no significativo.

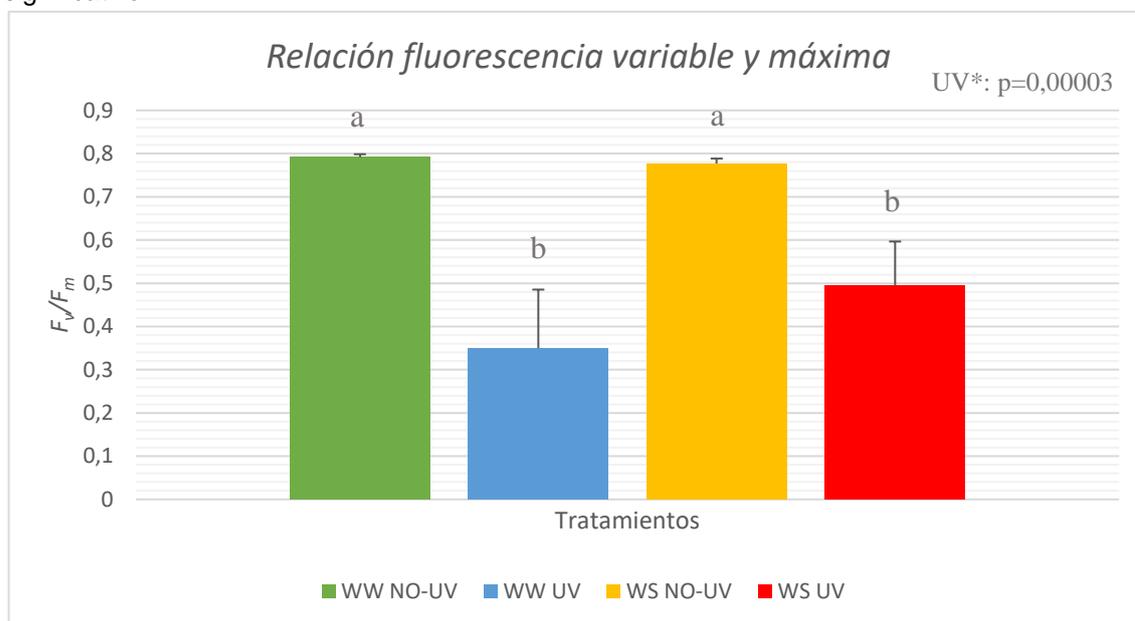


Figura 10: Relación F_v/F_m de plantas de *Os*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

La tabla 2 enseña los pigmentos fotosintéticos de Os en los 4 tratamientos aplicados. En el índice de balance del nitrógeno (NBI) se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de radiación ultravioleta y los de no ultravioleta, además se observó que también hay diferencias significativas en la interacción entre la radiación UV y la sequía.

Para las clorofilas, se observó que hay diferencias significativas entre los 4 tratamientos aplicados. En los flavonoides también se observó que hay diferencias significativas en los factores agua, radiación y en la interacción entre estos 2 factores. En los antocianos, se observó que entre los factores agua y radiación.

En las relaciones clorofila/flavonoides, clorofila/antocianos y clorofilas/flavonoides + antocianos, se observaron que hubieron diferencias significativas en los tratamientos con radiación ultravioleta y lo de radiación no ultravioleta.

Tabla 2: Pigmentos fotosintéticos de Os en los cuatros diferentes tratamientos. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

Tratamientos	Pigmentos fotosintéticos						
	NBI	Chl	Flav	Ant	Chl/Flav	Chl/Ant	Chl/(Flav+Ant)
WW NO-UV	31,22±7,55 c	25,21±3,1 7 b	0,83±0,1 3 a	0,15±0,0 1 b	31,23±7,4 3 b	164,04±38,5 8 b	26,09±5,87 b
WW UV	16,91±11,3 8 a	11,55±5,1 1 a	1,23±0,1 b	0,51±0,0 4 ac	9,28±3,92 a	21,95±9,45 a	6,49±2,76 a
WS NO-UV	46,67±7,4 c	38,05±1,9 3 b	0,83±0,1 1 c	0,1±0,01 b	46,62±7,3 9 b	385,11±62,7 4 b	41,5±6,32 b
WS UV	9,62±5,27 b	8,82±5,83 a	0,89±0,1 1 d	0,36±0,1 1 ac	9,51±5,37 a	24,21±13,95 a	6,78±3,78 a
F. hídrico	NS	NS	$p=0,003$	$p=0,049$	NS	NS	NS
F. UV	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Interacción	$p=0,002$	NS	$p=0,003$	NS	NS	NS	NS

La radiación UV redujo significativamente los valores en el contenido hídrico relativo (CHR) ($p=0,00009$) y los valores de LMA ($p=0,02805$). Esta reducción de la CHR fue de aproximadamente de un 55% respecto al control (WW NO-UV). En el LMA se produjo una reducción de aproximadamente de 20% en el tratamiento WW UV y el tratamiento WS UV respecto al control. Además, los tratamientos, para ambos parámetros no se vieron afectados por el efecto de la sequía ni por la interacción de ambos factores (figuras 11 y 12).

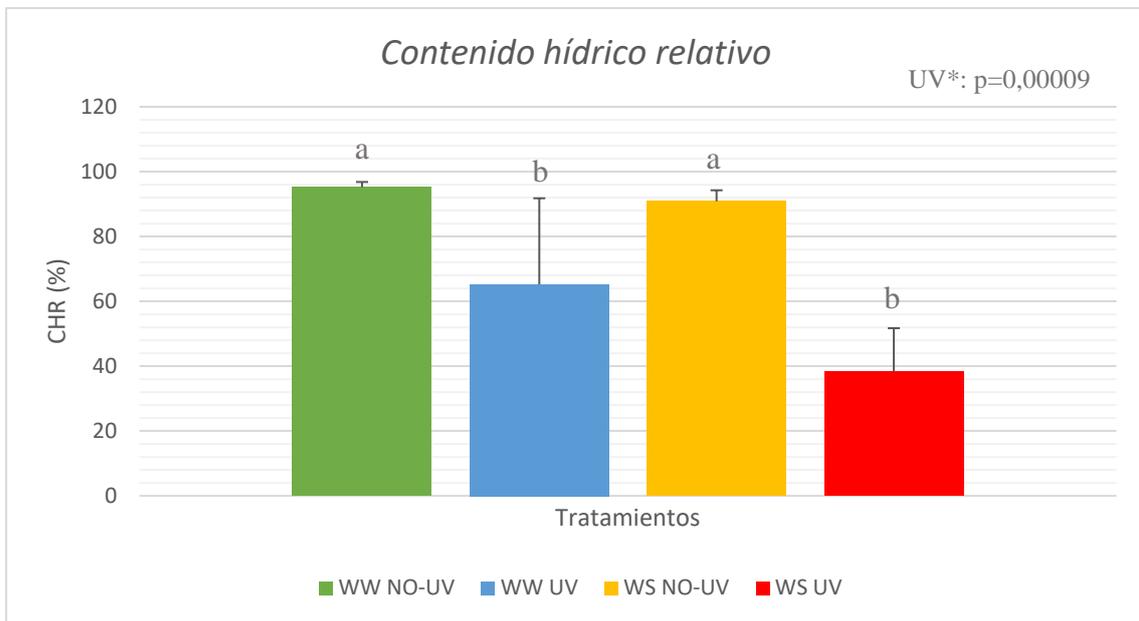


Figura 11: Contenido hídrico relativo (CHR) de Os. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

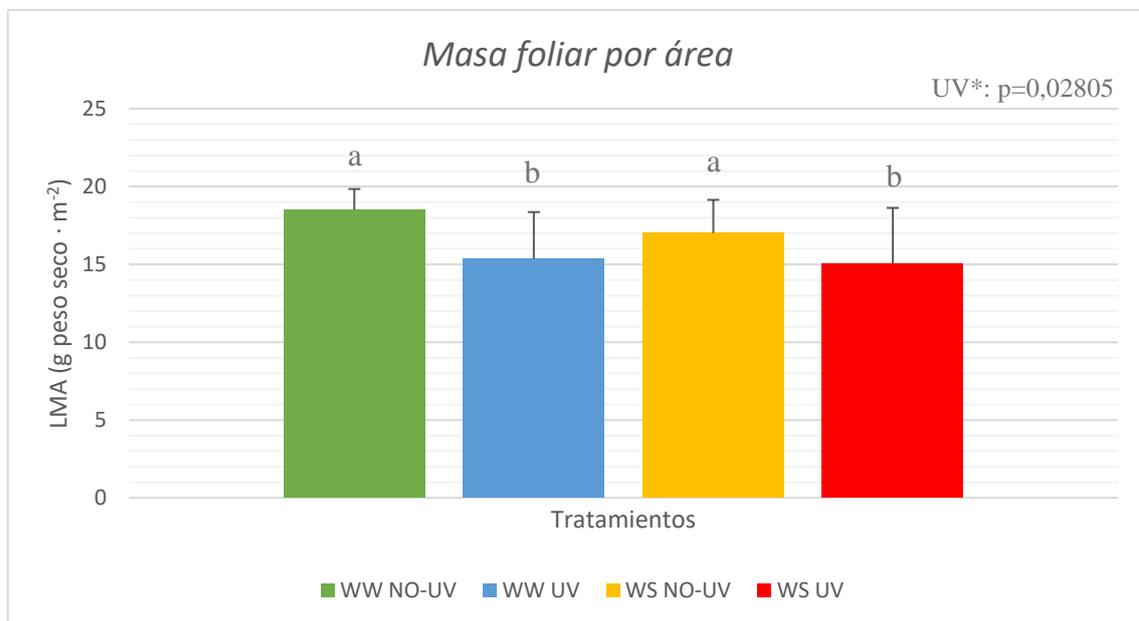


Figura 12: Masa foliar por área (LMA) de Os. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

Poa pratensis

El décimo séptimo día exposición a la radiación UV-B, se midió todos los parámetros para *Pp*. El efecto de la sequía redujo significativamente los valores de eficiencia del fotosistema II ($p=0,00034$) de *Pp*. Esta reducción de la eficiencia del fotosistema II fue de aproximadamente de un 73% en el tratamiento *WS UV*, y los valores en la relación de la fluorescencia variable y máxima ($p=0,0003$). En la relación F_v/F_m se produjo una reducción significativa por el efecto de la sequía ($p=0,011$) y del efecto de la radiación UV ($p=0,046$) en *Pp*. El tratamiento *WS UV* presentó una reducción de la relación F_v/F_m de aproximadamente de 50%. Además, los tratamientos, para ambos parámetros no se vieron afectados por el efecto de la interacción de ambos factores (figuras 13 y 14).

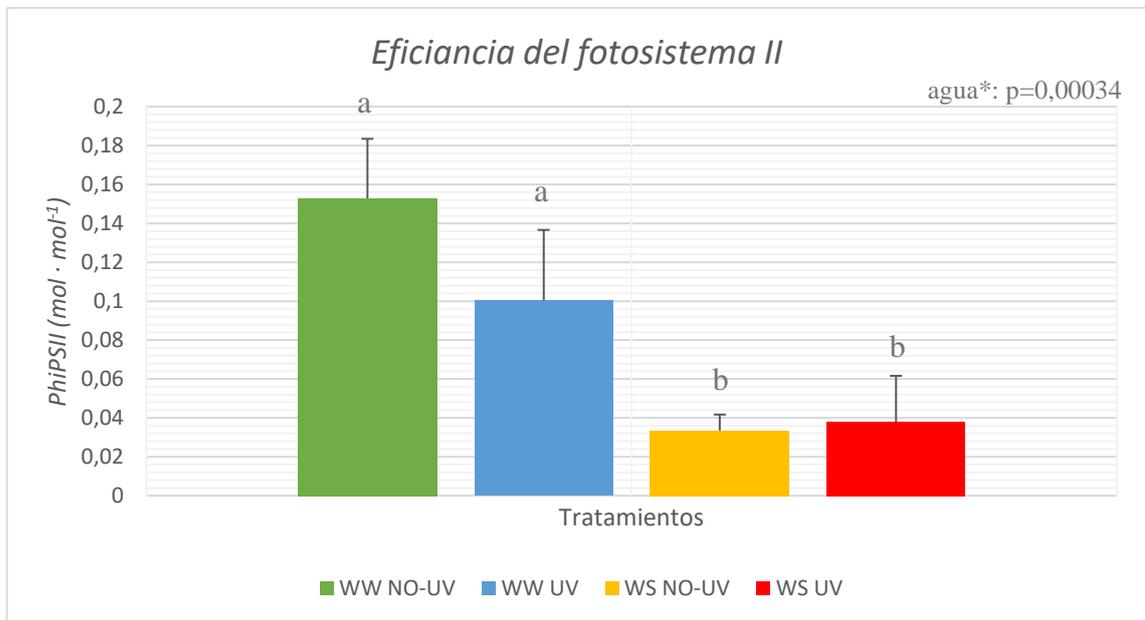


Figura 13: Eficiencia del fotosistema II (Φ_{PSII}) de plantas de *Pp*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

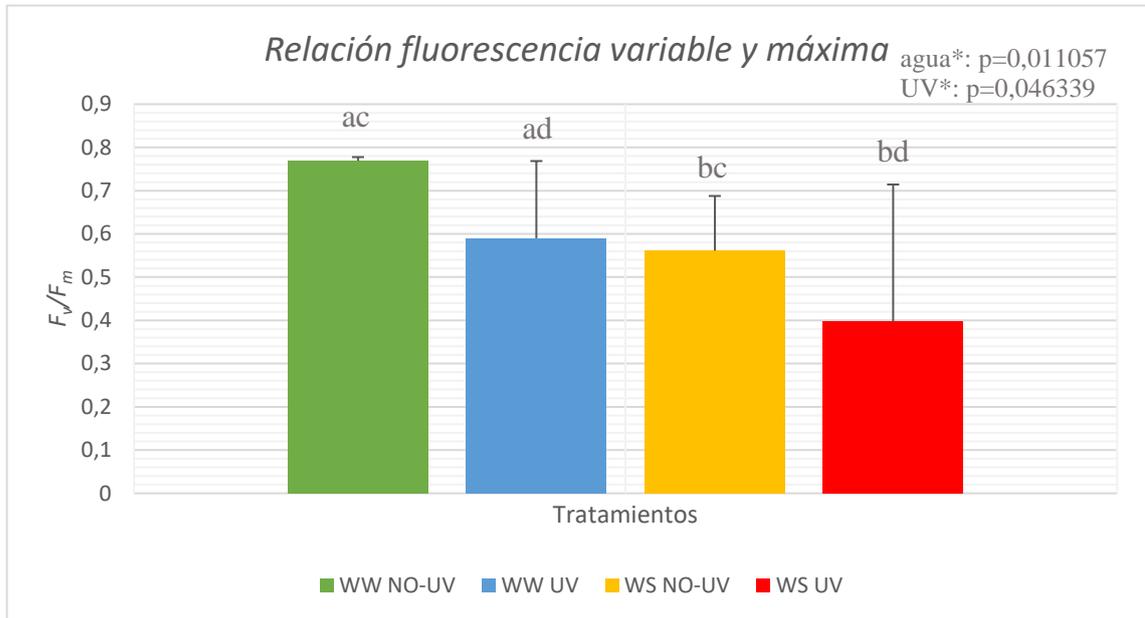


Figura 14: Relación F_v/F_m de plantas de *Pp*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

La tabla 3 enseña los pigmentos fotosintéticos de *Pp* en los 4 tratamientos aplicados. En el índice de balance del nitrógeno (NBI) se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de radiación ultravioleta y los de no ultravioleta.

Para las clorofilas, se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de radiación ultravioleta y los de no ultravioleta. En los flavonoides no se observó diferencias significativas. En los antocianos, se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de radiación ultravioleta y los de no ultravioleta.

En las relaciones clorofila/flavonoides, clorofila/antocianos y clorofilas/flavonoides + antocianos, se observaron que hubieron diferencias significativas en los tratamientos con radiación ultravioleta y lo de radiación no ultravioleta.

Tabla 3: Pigmentos fotosintéticos de *Pp* en los cuatros diferentes tratamientos. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

Tratamientos	Pigmentos fotosintéticos						
	NBI	Chl	Flav	Ant	Chl/Flav	Chl/Ant	Chl/(Flav+Ant)
WW NO-UV	17,58±2,51 a	14,22±2,09 a	0,83±0,18 a	0,12±0,03 a	17,53±2,73 a	125,88±39,35 a	15,23±2,33 a
WW UV	12,6±4,76 b	10,38±3,58 b	0,82±0,06 a	0,22±0,05 b	12,61±4,76 b	51,6±23,88 b	10,03±3,9 b
WS NO-UV	16,14±6,24 a	13,67±6,22 a	0,85±0,18 a	0,16±0,07 a	16,02±6,28 a	21,52±70,84 a	13,7±5,8 a
WS UV	10,35±1,69 b	9,41±1,85 b	0,92±0,11 a	0,25±0,05 b	10,3±1,71 b	38,76±13,02 b	8,05±1,54 b
F. hídrico	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F. UV	$p < 0,005$	$p < 0,017$	NS	$p < 0,05$	$p = 0,006$	$p < 0,05$	$p = 0,002$
Interacción	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

El efecto de la sequía redujo significativamente los valores en el contenido hídrico relativo (CHR) ($p = 0,00004$). Esta reducción de la CHR fue de aproximadamente de un 70% respecto al control (*WW NO-UV*). Además, los tratamientos, para este parámetro no se vieron afectados por el efecto de la radiación UV ni por la interacción de ambos factores.

La radiación UV afectó significativamente al LMA, se produjo una reducción de aproximadamente de 27% en el tratamiento *WW UV* y el tratamiento *WS UV* respecto al control. Además, los tratamientos, para este parámetro no se vieron afectados por el efecto de la sequía ni por la interacción de ambos factores (figuras 15 y 16).

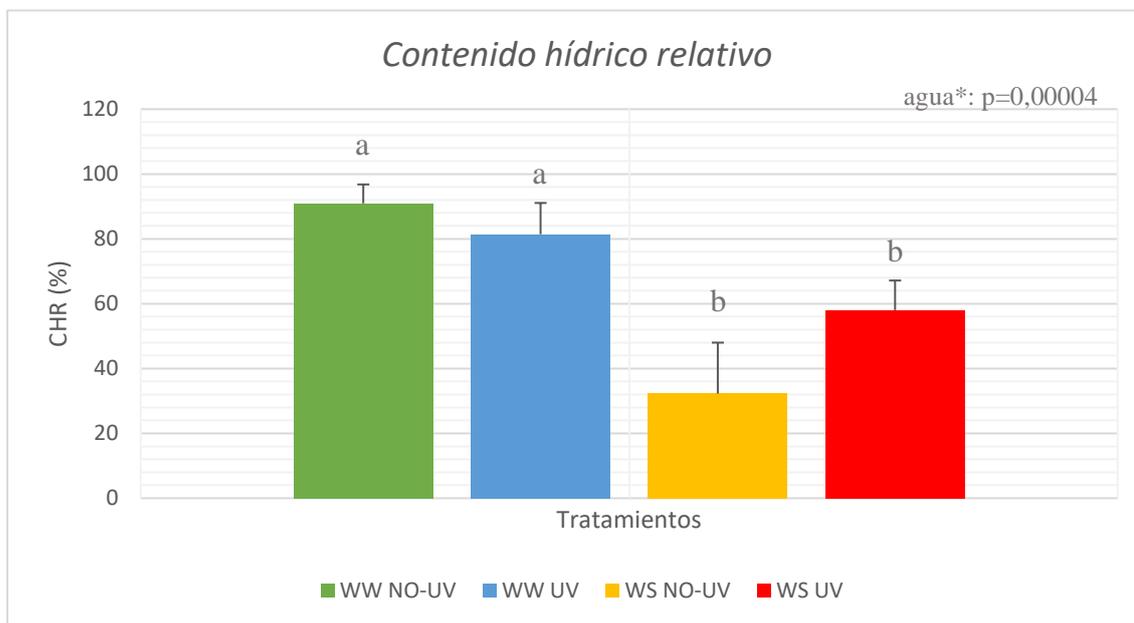


Figura 15: Contenido hídrico relativo (CHR) de *Pp*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$

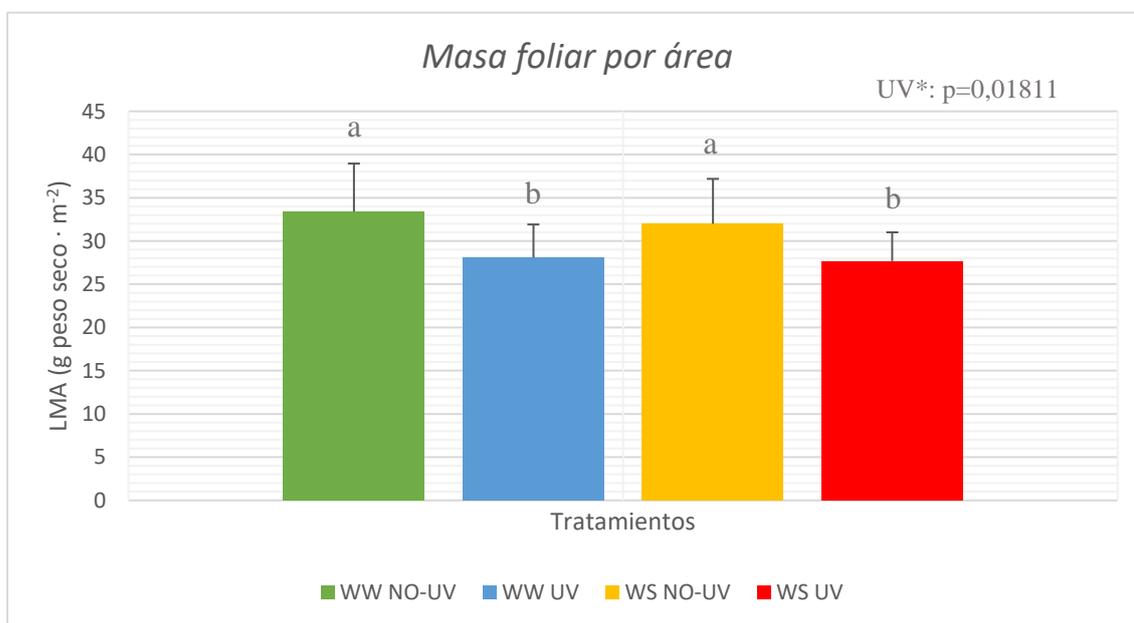


Figura 16: Masa foliar por área (LMA) de *Pp*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

Deschampsia antarctica

El vigésimo segundo día exposición a la radiación UV-B, se midió todos los parámetros para *Da*. El efecto de la sequía redujo significativamente los valores de eficiencia del fotosistema II ($p=0,0065$) y los valores en la relación de la fluorescencia variable y máxima ($p=0,0015$) en *Da*. Esta reducción de la eficiencia del fotosistema II fue de aproximadamente de un 25% respecto al control (*WW NO-UV*). En la relación F_v/F_m se produjo una reducción de aproximadamente de 26% en el tratamiento *WS UV* respecto al control. Además, los tratamientos, para ambos parámetros no se vieron afectados por el efecto de la radiación UV ni por la interacción de ambos factores (figuras 17 y 18).

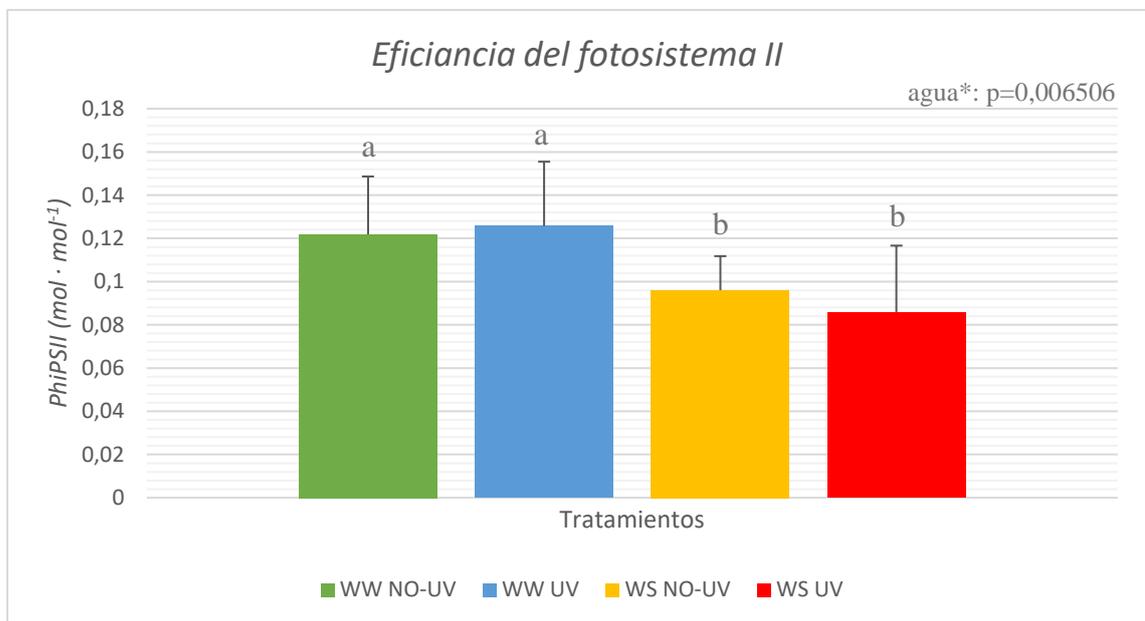


Figura 17: Eficiencia del fotosistema II (Φ_{PSII}) de plantas de *Da*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

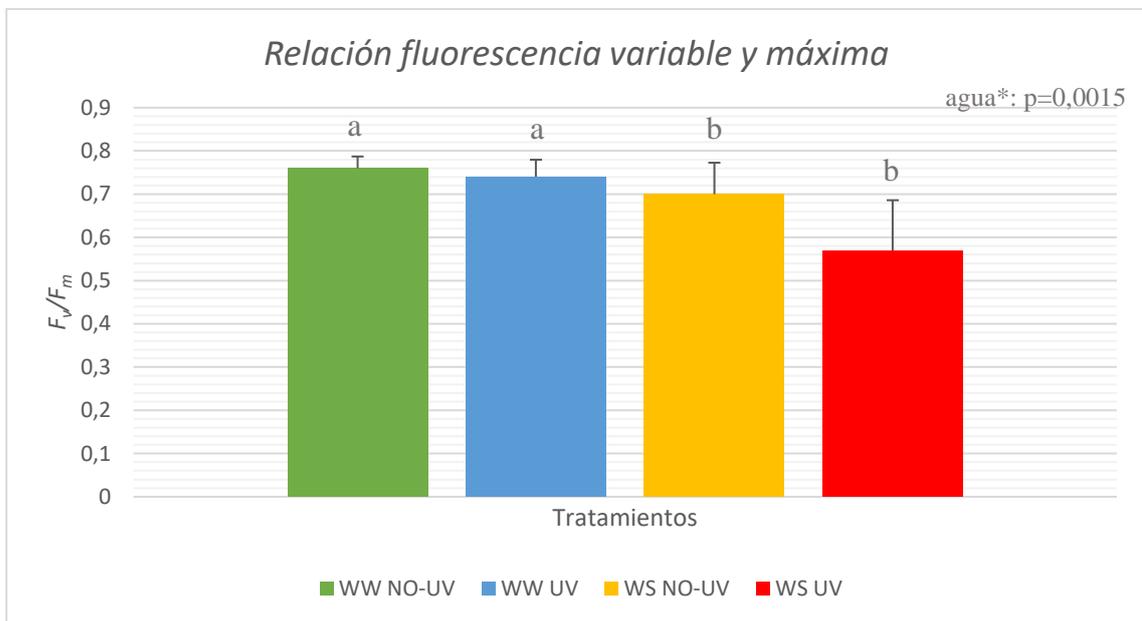


Figura 17: Relación F_v/F_m de plantas de *Da*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

La tabla 4 enseña los pigmentos fotosintéticos de *Da* en los 4 tratamientos aplicados. En el índice de balance del nitrógeno (NBI) se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de riego y sequía, también se observó que hubo diferencias significativas en los tratamientos con radiación ultravioleta y los de no ultravioleta.

Para las clorofilas, se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de riego y sequía. En los flavonoides y antocianos, se observó que hay diferencias significativas entre los tratamientos de radiación ultravioleta y los de no ultravioleta.

En las relaciones clorofila/flavonoides, clorofila/antocianos y clorofilas/flavonoides + antocianos, se observaron que hubieron diferencias significativas en los tratamientos con radiación ultravioleta y lo de radiación no ultravioleta.

Tabla 4: Pigmentos fotosintéticos de *Da* en los cuatros diferentes tratamientos. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

Tratamientos	Pigmentos fotosintéticos						
	NBI	Chl	Flav	Ant	Chl/Flav	Chl/Ant	Chl/(Flav+Ant)
WW NO-UV	29,97±1,31 bc	31,57±3,8 a	1,02±0,1 b	0,11±0,01 b	27,64±16,37 b	296,38±123,25 b	24,93±14,73 b
WW UV	15,58±3,15 ac	18,63±4,25 a	1,18±0,08 a	0,27±0,02 a	15,75±3,06 a	112,48±24,88 a	13,8±2,7 a
WS NO-UV	17,43±4,23 b	17,98±4,13 b	1,04±0,07 b	0,1±0,01 b	17,37±4,2 b	188,19±52,27 b	15,88±3,86 b
WS UV	13,53±2,65 a	16,03±4,25 b	1,17±0,08 a	0,16±0,03 a	13,53±2,65 a	96±25,12 a	11,83±2,31 a
F. hídrico	p=0,049	p=0,037	NS	NS	NS	NS	NS
F. UV	p=0,004	NS	p=0,009	p<0,05	p=0,032	p<0,05	p=0,017
Interacción	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Los efectos de la sequía y la radiación UV afectaron significativamente al contenido hídrico relativo ($p=0,00081$; $p=0,00558$; respectivamente). Se produjo una reducción de CHR aproximadamente de 47% en el tratamiento *WS UV*.

Los valores de LMA fueron afectados por la sequía y la radiación UV ($p=0,01453$; $p=0,0055$; respectivamente). La reducción de valores de LMA fueron aproximadamente de 33% en el tratamiento *WS UV*.

Además, los tratamientos, para ambos parámetros no se vieron afectados por el efecto de la interacción de ambos factores (figuras 19 y 20).

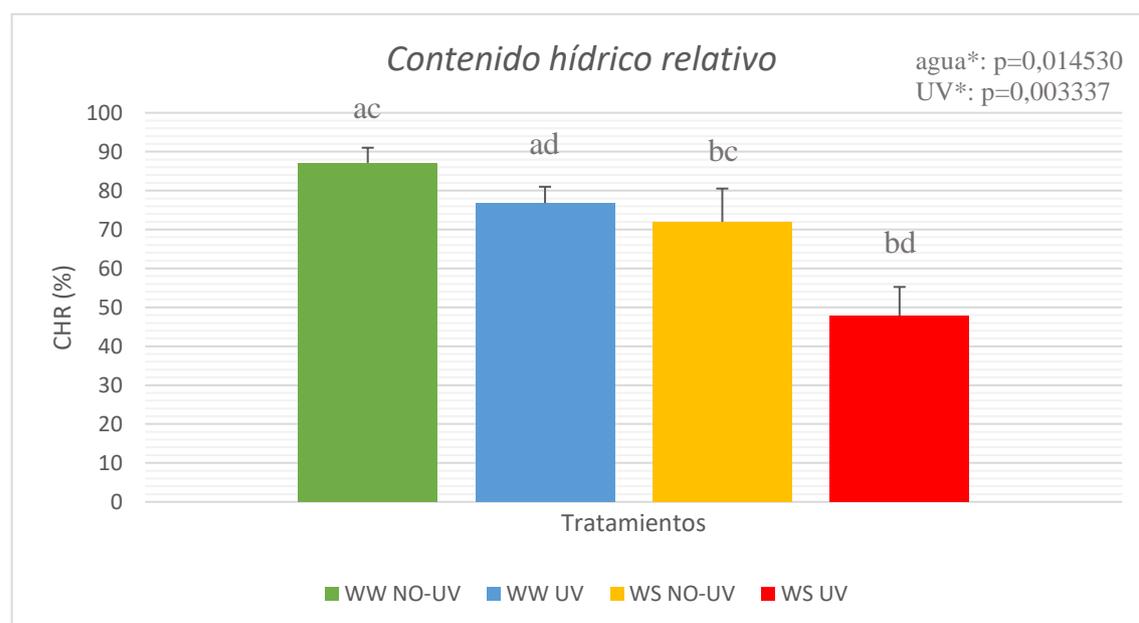


Figura 19: Contenido hídrico relativo (CHR) de *Da*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

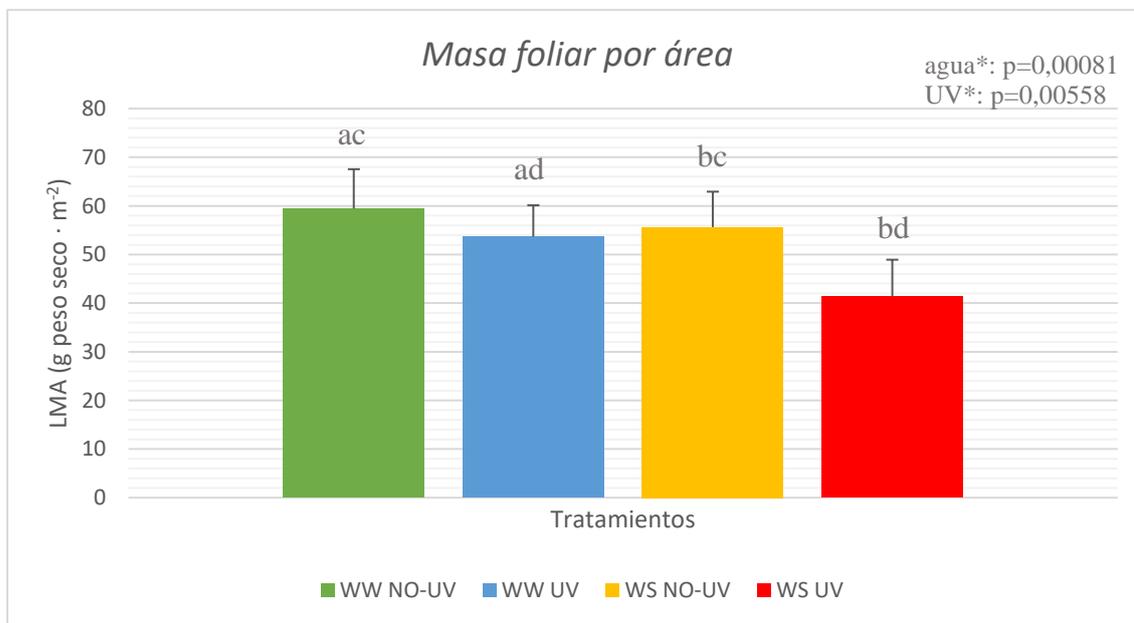


Figura 20: Masa foliar por área (LMA) de *Da*. *WW NO-UV*: riego sin radiación UV; *WS NO-UV*: sequía sin radiación UV; *WW UV*: riego con radiación UV; *WS UV*: sequía con radiación UV. Las letras en minúsculas indican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

Discusión

En muchos estudios se ha observado que la radiación UV tiene varios efectos negativos sobre la morfología, fisiología, crecimiento, desarrollo y acumulación de biomasa (Petropoulou et al., 1995; Bassman et al., 2001; Zaller et al., 2002; Lu et al., 2009; Bandurska et al., 2013; Chen et al., 2016).

De acuerdo con estos estudios, los resultados de *Os* mostraron que el *PhiPSII*, el F_v/F_m , el CHR y el LMA de las plantas se redujo significativamente bajo la radiación UV. Además, en estudios de Parammal y Puthur (2017) afirman que la exposición de UV en *Os*, provoca una reducción en el contenido de clorofilas y un aumento de carotenoides y flavonoides, tal y como ocurre en los estudios de Salama et al., 2011.

Los resultados para *Pp* muestran que los parámetros de *PhiPSII*, F_v/F_m y CHR se redujeron por la sequía. En cambio, los resultados de los pigmentos fotosintéticos concuerdan con los resultados de Ervin et al. (2004), en donde se indica que un aumento de las antocianinas es producido como prevención del daño en las hojas. Además, un aumento de las antocianinas está relacionado con la exposición a la radiación UV (Holton y Cornish, 1995).

En *Da*, se observó que la sequía reduce los valores de los parámetros en *PhiPSII*, F_v/F_m , CHR y LMA. Además, los pigmentos fotosintéticos se redujeron por efectos de la radiación UV. Se esperaba esta observación porque los pigmentos se ven afectados negativamente por la radiación UV (Jansen et al., 1998; Vass et al., 2005). Los pigmentos de clorofila y algunas proteínas que son componentes de PSII se oxidan con frecuencia a través de cambios en la intensidad de la luz (Von Wettstein et al., 1995; Chatterjee y Kundu, 2015). La luz UV- B no solo perturba la síntesis de clorofila, también afecta la eficiencia fotosintética de *PSII* (Edelman y Mattoo, 2008).

De manera general, el *PhiPSII*, el CHR y el LMA se redujeron, como ocurre en los estudios de Feng et al. (2014) y Chen et al. (2016). Además, se encontró que las reducciones en la biomasa (LMA) bajo los tratamientos combinados de sequía y radiación UV fueron menores, en las tres especies estudiadas, que la de los cambios cuando los estreses se impusieron por separado, lo que sugiere que una de las respuestas de defensa activadas por una tensión podría mitigar el daño causado por el otro estrés.

Las respuestas de las plantas a la radiación UV y al estrés por sequía dependen en gran medida de la duración y la intensidad del estrés. La radiación UV a veces mejora la resistencia al déficit de agua y viceversa. El aumento de la resistencia puede surgir como resultado de la activación de los mecanismos de tolerancia y escape del estrés (Bandurska et al. 2013). En este estudio, los efectos tanto únicos como combinados de la radiación UV y el estrés por sequía disminuyeron los parámetros de fluorescencia de clorofilas, en las tres especies estudiadas.

La bibliografía indica que se ha demostrado que la radiación UV aumenta (Poulson et al. 2006), disminuye (Qaderi et al. 2007) o no tiene ningún efecto sobre el contenido de clorofila (Newsham y Robinson 2009). Además, han informado de la acumulación de compuestos que absorben la radiación UV después de una mayor radiación UV (Randriamanana et al. 2015). Yao et al. (2011) creían que el potencial para acumular flavonoides totales mejoraba la capacidad de protección contra la radiación UV. Además, Bowker et al. (2002) informaron que la síntesis de compuestos absorbentes de radiación UV se aumenta en respuesta a niveles altos de UV (tablas 2, 3 y 4).

Estos resultados son coherentes con estudios similares de Hoffmann et al. (2003) y Javadmanesh et al. (2012), en otras plantas, las cuales están expuestas simultáneamente tanto al aumento de UV como al déficit de agua mostraron un incremento en los compuestos absorbentes de UV en comparación con el aumento de UV solo, tal y como ocurren con los resultados en *Pp* y *Da* (tablas 2, 3 y 4). Probablemente el déficit de agua modere el aumento de pigmentos protectores de radiación UV en *Os* al inducir una baja síntesis de compuestos absorbentes de radiación UV. Esta síntesis podría ser una de las razones de la tolerancia a la radiación UV cuando también experimenta déficit de agua.

Conclusión

Según el análisis fisiológico que se realizó, la radiación UV provocó efectos negativos en *Os*, notando leves efectos de sequía.

Los efectos de la sequía prevalecen respecto a la radiación UV en *Pp*. Esto se debe a que esta especie estuvo más tiempo expuesta a radiación UV.

En *Da*, los efectos negativos que más predominan se deben, en mayor medida, al efecto de la sequía que a la exposición con radiación UV, a pesar de que esta especie estuvo más tiempo expuesta a la radiación UV que *Os* y *Pp*.

De esta manera, este trabajo contribuye a aumentar el conocimiento de la ecofisiología de las gramíneas polares y a comprender los procesos claves relacionados con la tolerancia de estas gramíneas a la adversidad del clima que presenta el Ártico y la Antártida, ya que en este trabajo se estudió la respuesta frente a dos estreses diferentes a un rango de nivel estructural y de inversión de recursos en dos grandes especialistas de clima fríos (*Pp* y *Da*) y una gramínea cultivable (arroz).

Por otro lado, se requiere más trabajo para analizar aún más los mecanismos de las respuestas relacionadas con el estrés por sequía y por radiación UV y/o la combinación con otros tipos de estreses a lo largo del tiempo para determinar cómo ocurren las compensaciones entre el crecimiento, las respuestas al estrés y la inversión de recursos en la supervivencia.

Agradecimientos

Llegar al final de este estudio conlleva el involucramiento de numerosas personas, que con su apoyo han contribuido en la realización de este trabajo. Es así que quisiera expresarles mi más profundo agradecimiento. Al Dr. Xurxo Gago, por dirigir este trabajo con gran dedicación, entusiasmándome para seguir adelante y al Dr. Miquel Nadal, por su inestimable ayuda en todos los aspectos de este trabajo. A la Universidad de las Islas Baleares (UIB), por abrir sus puertas y proporcionarme la oportunidad de realizar los estudios de grado y máster, especialmente a los secretarios de Posgrado y al personal docente y no docente del Departamento de Fisiología Vegetal. Al grupo ABAIGAR, de la Universidad de la Rioja, por contribuir en aspectos importantes para la realización de este trabajo.

A mis queridos amigos y pareja, por animarme siempre a seguir adelante con el trabajo y brindarme su apoyo para que pudiera finalizar con este trayecto. Por último, a la persona más importante en mi vida, mi Madre, por ser una persona, por haberme dado la oportunidad de poder estudiar y haberme apoyado en cada momento durante toda mi vida y por ello te digo: GRACIAS MAMÁ.

Referencias

- Acevedo, E. (2003) Resistance to abiotic stresses. En: Plant Breeding: Principles and Prospect. London:Chapman & Hall, p. 406-418.
- Adams, H.D., Guardiola-Claramonte, M., Barron-Gafford, G.A., Villegas, J.C., Breshears, D.D., Zou, C.B., et al., (2009) Temperature sensitivity of drought-induced tree mortality portends increased regional die-off under global-change-type drought. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 7063–7066.
- Aggarwal, A., Kumari, R., Mehla, N., Rishi Pal Singh, D., Bhatnagar, S., Sharma, K., Sharma, K., Vashishtha, A., Rathi, B. (2013) Depletion of the Ozone Layer and Its Consequences: A Review. *Am. J. Plant Sci.* 4: 1990-1997.
- Aroca, R. (2012) Plant Responses to Drought Stress. Springer, Berlin.
- Arroyo, M.T.K., von Bohlen, C.P., Cavieres, L., Marticorena, C. (1992) Survey of the flora of Torres del Paine National Park, Chile. *Gayana Botánica.* 49 (1-4): 47-70.
- Ballare, C.L., Caldwell, M.M., Flint, S.D., Robinson, A., Bornman, J.F. (2011) Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. *Photochem. Photobiol. Sci.* 10, 226–241.
- Bandurska, H., Niedziela, J., Chadzinikolau, T. (2013) Separate and combined responses to water deficit and UV-B radiation. *Plant Sci.* 213, 98–105.
- Bassman, J.H., Robberecht, R., Edwards, G.E. (2001) Effects of enhanced UV-B radiation on growth and gas exchange in *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. Effects of enhanced UV-B radiation on growth and gas exchange in *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. *Int. J. Plant Sci.* 162, 103–110.
- Bertin, N., Gary, C. (1998) Short and long term fluctuations of the leaf mass per area of tomato: implications for growth models. *Annals of Botany*, 82: 71–81.
- Bhatia, C. R., R. Rabson. (1976) Bio-energetic considerations in cereal breeding for protein improvement. *Science* 194: 1418–1421.
- Bota, J. Flexas, J. Medrano, H. (2004) Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytol.* 162, 671–681.

- Bowker M.A, Reed S.C, Belnap J, Phillips S.L. (2002) Temporal variation in community composition, pigmentation, and F_v/F_m of desert cyanobacterial soil crusts. *Microb Ecol* 43:13–25.
- Bruuselma, T.W., Heffer, P., Welch, M.R., Cakmak, I., Moran, K. (2012) Fertilizing crops to improve. Human health: A scientific review. IPNI, IFA.
- Caldwell, M. M., Gold, W. G., Harris, G., Ashurst, C.W. (1983) A modulated lamp system for solar UV-B (280–320 nm) supplementation studies in the field. *Photochemistry and Photobiology* 37: 479–485.
- Caldwell, M.M., Robberecht, R., Flint, S.D. (1983) Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plants. *Physiol Plant* 58 (3): 445-450.
- Callaway, E. (2014). Domestication: The birth of rice. *Nature* 514: 58-59.
- Castro-Díez, P., Puyravaud, J.P., Cornelissen, J.H.C. (2000) Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*, 124: 476–486.
- CEPAL. (2010) Agricultura y cambio climático: instituciones, políticas e innovación.
- Convey, P. (1996) Reproduction of Antarctic flowering plants. *Antarctic Science*, 8(2), 127-134.
- Chatterjee, A., Kundu, S. (2015). Revisiting the chlorophyll biosynthesis pathway using genome scale metabolic model of *Oryza sativa japonica*. *Sci. Rep.* 5:14975.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under Drought and Salt Stress: Regulation Mechanisms from Whole Plant to Cell. *Annals of Botany*, 103, 551-560.
- Chen, M.H., Huang, Y.Y., Liu, G., Qin, F., Yang, S., Xu, X. (2016) Effects of enhanced UV-B radiation on morphology, physiology, biomass, leaf anatomy and ultrastructure in male and female mulberry (*Morus alba*) saplings. *Environ. Exp. Bot.* 129, 85–93.
- de Abreu e Lima, F., Westhues, M., Cuadros-Inostroza, A., Willmitzer, L., Melchinger, A. E., Nikoloski, Z. (2017) Metabolic robustness in young roots underpins a predictive model of maize hybrid performance in the field. *Plant Journal*, 90, 319– 329.

Del, J., Toivonen, P. (eds). (2003) Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology. Kluwer academic. N.J., USA.

Dotto, M., Casati, P. (2017) Developmental reprogramming by UV-B radiation in plants. *Plant Science* 264: 96 – 101.

Edelman, M., Mattoo, A. K. (2008) D1-protein dynamics in photosystem II: the lingering enigma. *Photosynth. Res.* 98, 609 – 620.

Erwin, E.H., Zhang, X., Fike, J.H. (2004) Ultraviolet-B radiation damage on Kentucky bluegrass. I. Antioxidant and colorant treatment. *HortScience*. 39 (6): 1467 – 1472.

Everaarts, A. P. (1993) Strategies to improve the efficiency of nitrogen fertilizer use in the cultivation of Brassica vegetables. *Acta Horticulturae* 339: 161 – 173.

Faggioli, V.S., Cazorla, C.R., Vigna, A., Berti, M.F. (2003) Fertilizantes biológicos en maíz: ensayo de inoculación con cepas de *Azopirillum* y *Pseudonomas fluorescens*. Córdoba, Argentina: Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuaria, 4.

FAO. (2009) The State of Food Insecurity in the World 2009. Food and Agriculture of the United Nations.

Fathi, A., Tari, D.B. (2016) Effect of drought stress and its mechanism in plants. *Int. J. Life Sci.* 10, 1–6.

Feng, L.H., Jiang, H., Zhang, Y.B., Zhang, S. (2014) Sexual differences in defensive and protective mechanisms of *Populus cathayana* exposed to high UV-B radiation and low soil nutrient status. *Physiol. Plant.* 151, 434–445.

Florin, S., Gicu-Gabriel, A., Olimpia, L., Marius, B. (2015) Leaf area constant model in optimizing foliar area measurement in plants: A case study in apple tree. *Scientia Horticulturae*, 193: 218 – 224.

Foyer, C.H., Fletcher, J.M. (2001) Plant antioxidants: colour me healthy. *Biologist* (London England) 48 (3), 115–120.

Frenot, Y., Chown, S., Whinam, J., Selkirk, P., Convey, P., Skotnicki, M., Bergstrom, D. (2005) Biological invasions in the Antarctic: Extent, impacts and implications. *Biological Reviews*, 80(1): 45-72.

Goulas, Y., Cerovic, Z.G., Cartelat, A., Moya, I. (2004) Dualex: A new instrument for field measurements of epidermal UV-absorbance by chlorophyll fluorescence. *Applied Optics* 43: 4488–4496.

Gracia, C.A., Tello, E., Sabate, S., Bellot, J. (1999) GOTLWA: An integrated model of water dynamics and forest growth. In: Roda, F., Retana, J., Garcia, C.A., Bellot, J. (Eds.), *Impacts of Global Change on Tree Physiology and Forest Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin.

Green, D.S., Erickson, J.E., Kruger, E.L. (2003) Foliar morphology and canopy nitrogen as predictors light-use efficiency in terrestrial vegetation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 115: 163–171.

Greene D.M., Holtom, A. (1971) Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. & *Deschampsia antarctica* Desv. III. Distribution, habitats and performance in the Antarctic botanical zone. *British Antarctic Survey Bull* 26: 1–29.

Hahlbrock, K., Scheel, D. (1989) Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 347–369.

Hitchcock, A. S. (1951) *Man. Grasses U.S.* (ed. 2) 1–1051. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.

Hoagland D.R., Arnon D.I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station 347 (2nd edit).

Hoffman, L., DaCosta, M., Ebdon, J.S., Zhao, J. (2012) Effects of drought preconditioning on freezing tolerance of perennial ryegrass. *Environ. Exp. Bot.* 79, 11–20.

Holton, T.A., Cornish, E.C. (1995) Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell*. 7: 1071 – 1083.

IPCC, 2014. Climate change 2014: synthesis report. In: Pachauri, R.K., Meyer, L.A. (Eds.), *Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 151.

Jansen, M. A. K., Gaba, V., and Greenberg, B. M. (1998) Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.* 3, 131–135.

- Javadmanesh, S., Rahmani, F., Pourakbar, L. (2012) UV–B radiation, soil salinity, drought stress and their concurrent effects on some physiological parameters in maize plant. *Am Eurasian J Toxicol Sci* 4:154–164
- Jorge, T. F., Rodrigues, J. A., Caldana, C., Schmidt, R., van Dongen, J. T., Thomas-Oates, J., António, C. (2016) Mass spectrometry-based plant metabolomics: Metabolite responses to abiotic stress. *Mass Spectrometry Reviews*, 35, 620–649.
- Khan, M.I.R., Khan, N.A., (2017) *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*. Springer.
- Köhler, H., Contreras, R.A., Pizarro, M., Cortés-Antíquera, R., Zúñiga, G.E. (2017) Antioxidant Responses Induced by UVB Radiation in *Deschampsia antarctica* Desv. *Front. Plant Sci.* 8:921.
- Li, X., Cai, J., Liu, F., Dai, T., Cao, W., Jiang, D. (2014) Cold priming drives the subcellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low-temperature stress in winter wheat. *Plant Physiol. Biochem.* 82, 34–43.
- Linares, O. F. (2002) African rice (*Oryza glaberrima*): history and future potential. *Proc Natl Acad Sci USA*. doi: 10.1073/pnas.252604599. Epub 2002 Dec 2. PMID: 12461173; PMCID: PMC138616.
- Lu, Y.W., Duan, B.L., Zhang, X.L., Korpelainen, H., Berninger, F., Li, C.Y. (2009) Intraspecific variation in drought response of *Populus cathayana* grown under ambient and enhanced UV-B radiation. *Ann. For. Sci.* 66, 12
- Maxwell, K., Johnson, G.N. (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Exp Bot* 345: 659 – 668.
- Mohammed, A.R., Tarpley, L. (2010) Differential Response of Southern US Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars to Ultraviolet-B Radiation. *J. Agronomy & Crop Science.* 196: 286 – 295.
- Müller-Xing, R., Xing, Q., Goodrich, J. (2014) Footprints of the sun: memory of UV and light stress in plants. *Front. Plant Sci.* 5: 474.
- Muscolo, A., Junker, A., Klukas, C., Weigelt-Fischer, K., Riewe, D., Altmann, T. (2015) Phenotypic and metabolic responses to drought and salinity of four contrasting lentil accessions. *J. Exp. Bot.* 66, 5467–5480.

Newsham, K.K., Robinson, S.A. (2009) Responses of plants in polar regions to UVB exposure: a meta-analysis. *Global Change Biol.* 15:2574–2589.

Pallardy, S.G., Kozlowski, T.T. (2008) *Physiology of Woody Plants*. Elsevier, Amsterdam.

Parammal, F., Puthur J.T. (2017) The imprints of the high light and UV-B stresses in *Oryza sativa* L. 'Kanchana' seedlings are differentially modulated. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 178: 551-559.

Pertierra, L.R., Lara, F., Benayas, J. (2013) *Poa pratensis* L., current status of the longest-established non-native vascular plant in the Antarctic. *Polar Biology*, 36: 1473.

Petropoulou, Y., Kyparissis, A., Nikolopoulos, D., Manetas, Y. (1995) Enhanced UV-B radiation alleviates the adverse effects of summer drought in two Mediterranean pines under field conditions. *Physiol. Plant.* 94, 37–44.

Poulson, M.E., Boeger, M.R.T., Donahue, R.A. (2006) Response of photosynthesis to high light and drought for *Arabidopsis thaliana* grown under a UV-B enhanced light regime. *Photosyn. Res.* 90:79–90.

Prado, F.E., Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, J.A., et al. (2012) UV-B radiation, its effects and defense mechanisms in terrestrial plants. In: Ahmad, P., Prasad, M. (Eds.), *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. Springer, New York, NY.

Qaderi, M.M., Reid, D.M., Yeung, E.C. (2007) Morphological and physiological responses of canola (*Brassica napus*) siliques and seeds to UVB and CO₂ under controlled environment conditions. *Environ. Exp. Bot.* 60:428–437.

Randriamanana, T.R., Nissinen, K., Moilanen, J., Nybakken, L., Julkunen-Tiitto, R. (2015) Long-term UV-B and temperature enhancements suggest that females of *Salix myrsinifolia* plants are more tolerant to UV-B than males. *Environ Exp Bot* 109:296–305.

Rasband, W.S. (1997) ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, pp. 1997–2014. (<http://imagej.nih.gov/ij/>).

Ruhland, C. T., Day, T. A. (2000) Effects of ultraviolet-B radiation on leaf elongation, production and phenylpropanoid concentrations of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis* in Antarctica. *Physiol. Plant.* 109, 244–251.

Ruhland, C.T., Krna, M.A. (2010) Effects of salinity and temperature on *Deschampsia antarctica*. *Polar Biology*, 33: 1007.

Salama, H.M.H., Watban, A.A., Anoud, T.F. (2011) Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants, Saudi J. Biol. Sci. 18: 79–86.

Suzuki, N., Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E., Mittler, R., (2014) Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytol.* 203, 32–43.

Taalas, P., Kaurola, J., Kylling, A., Shindell, D., Sausen, R., Dameris, M., et al. (2000) The impact of greenhouse gases and halogenated species on future solar UV radiation doses. *Geophys. Res. Lett.* 27, 1127–1130.

Tremblay, N. (2004) Determining nitrogen requirements from crops characteristics. Benefits and challenges. *Recent Research Development in Agronomy & Horticulture* 1. Chapter 9: 157–182.

Vass, I., Szilárd, A., Sicora, C. (2005). "Chapter 43: adverse effects of UVB light on the structure and function of the photosynthetic apparatus," in *Handbook of Photosynthesis*, 2nd Edn, ed. M. Pessarakli (Boca Raton, FL: CRC press), 931–949.

Von Wettstein, D., Gough, S., Kannangara, C. G. (1995). Chlorophyll biosynthesis. *Plant Cell* 7, 1039–1057.

Wirtz, K.W. (2000) Simulating the dynamics of leaf physiology and morphology with an extended optimality approach. *Annals of Botany*, 86(4): 753 – 764.

Yao, X., Chu, J., He, X., Ba, C. (2011) Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV–B radiation. *Russ J Plant Physiol* 58:283–289.

Zaller, J.G., Caldwell, M.M., Flint, S.D., Scopel, A.L., Salo, O.E., Ballare, C.L. (2002) Solar UV-B radiation affects below-ground parameters in a fen ecosystem in Tierra del Fuego, Argentina: implications of stratospheric ozone depletion. *Glob. Change Biol.* 8, 867–871.

Zhu, J.K. (2016) Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167, 313–324.



Anexo 1: Revisión bibliográfica para establecer la dosis de radiación UV para las tres especies utilizadas en este estudio.

Especie	Rango (nm) UV-B	Intensidad (Kj·m ⁻²)	Tiempo expo (h/d)	Dosis (Kj·m ⁻² ·d ⁻¹)	Parámetro	Resultado	Referencia
<i>Oa</i>	280 - 315	0, 8 y 16	8h	0, 8 y 16	1.Tasa A _n . 2.Fuga electrolítica (Fe). 3.Fenoles foliar (Ff). 4.Rendimiento.	1.An de -38%. 2. Fe de 92% para 8kj y 183% para 16 kj. 3.Ff hasta un 32%. 4.Rendimiento de -26% para 8 y -55% para 16.	Mohammed y Tarpley (2010)
<i>Da</i>	290 - 320	21,4	24h	21,4	1.ROS. 2.Peroxidación de membrana. 3.Pigmentos fotosint. (a/b). 4.Tasa A _n . 5.Enzimas antioxidantes. 6.SOD, APX, POD, CAT y PAL. 7.Hidroalcoholes, Fenoles.	1.Pico máx. a las 3h de expo. 2. Perox de la membrana hasta un 30%. 3.Pigmentos hasta un -10% a las 3h de expo. 4.A _n no hay diferencias. 5.Pico máx. a las 3h de expo. 6.Pico máx. a las 3h de expo para SOD; ligero aumento a las 3h de expo para APX; aumento de hasta 10 veces más para POD; aumento ligero para CAT y pico máx. a las 3h de expo para PAL. 7.Pico máx. a las 3h de expo para ambos.	Köhler et al. (2017)
<i>Pp</i>	290 - 320	82,404	11h	7,49	1.Eficiencia fotoquímica. 2.SOD, APX; CAT y contenido de proteínas	1.-30% de perdida en la eficiencia fotoquímica respecto al control 2.aumneto de SOD entre 30-33%; aumento de CAT entre 37-59%	Erwin et al. (2004)