

**Compromisos en la asignación de recursos, perennidad y la estabilidad del
rendimiento, durante el proceso de domesticación de hierbas xerofíticas.**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Área
Ciencias Agropecuarias.*

Wanda Jimena Masnatta

Lic. Ciencias Biológicas-Universidad Nacional de la Patagonia UNSJB-2007.

Lugar de trabajo: Museo Paleontológico Egidio Feruglio (Mef).



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires.



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis:

Damián Andrés Ravetta

Ing. Agr. (UBA)

Ph D. (University of Arizona)

Consejero de estudios:

Martín Roberto Aguiar

Ing. Agr. (UBA)

Ph D. (Ecology, Colorado State University)

JURADO DE TESIS

JURADO:

Alejandro Jorge Bisigato

Ing. Agr. (UBA)

Dr. en Ciencias Agrarias (UBA)

JURADO:

Julieta Nélica Aranibar

Bióloga (UNC)

Ph.D. en Ciencias Ambientales (University of Virginia)

JURADO:

Paula Marchelli

Lic. en Ciencias Biológicas (UNMDP)

Dra. en Ciencias Biológicas (UNC)

Fecha de defensa de tesis: 22 de junio de 2018

A mi hijo, Camilo Góngora

A mi hermana, Lucía Masnatta

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar al Dr. Damián Ravetta por haberme introducido en la eco-fisiología de plantas de zonas áridas y principalmente por haber instalado en mi un pensamiento crítico y un manera del mirar el ecosistema para mí antes desconocida. Agradezco la confianza por él otorgada, la cual me permitió plasmar mis ideas con total libertad. Damián, sinceramente gracias.

Otro de mis principales agradecimientos es a la Dra. Luciana González-Paleo quien ha sido durante estos años mi referente de trabajo, mi compañera, mi amiga, y en determinadas ocasiones mi psicóloga amateur. Por todos estos años transitando el estudio de hierbas de zonas áridas con momentos tranquilos y también con otros un poco más incómodos que por suerte supimos resolver. De la Doctora González-Paleo aprendí el amor y la pasión por la investigación, ella hace que todo parezca algo sencillo. Gracias Luciana y, por seguir en el desafío de aportar ideas al desarrollo de algún nuevo sistema experimental siempre enfocado en la sustentabilidad de los agro-ecosistemas.

A mi consejero de Estudios el Dr. Martín Aguiar, en primer lugar por aceptar ser mi consejero y luego por sus aportes a este trabajo. Sus contribuciones fueron muy importantes en mi formación ya que al estar en el interior del país y con pocos investigadores relacionados al estudio, la interacción con él y sus aportes fueron fundamentales para una visión más holística del tema.

A mis compañeros actuales y a los que pasaron a lo largo de todos estos años por el grupo de plantas actuales del Museo Paleontológico Egidio Feruglio: Gabriela Jaramillo, Paula Gambino, Romina Gônc, Gimena Rajnoch, Alejandro Pastor-Pastor, Gerardo Cerderías. A todos gracias por las muchas interacciones y alegrías juntos, vital para realizar un trabajo a gusto.

En los trabajos de Laboratorio, recibí la ayuda de Bárbara Vallejos sin la cual hubiese sido muy difícil concluir con el procesamiento de la biomasa y los análisis químicos.

Mis agradecimientos a los asesoramientos para la Dra. Alejandra Vilela en la formulación del marco teórico. Quien, además, añadió una cuota de alegría a todos estos años de trabajo diario.

A mi familia por la contención de siempre, principalmente a mi mamá Adela Baeza quien nos enseñó, a mis hermanos y a mí, que la palabra abandonar no es propia de nuestro vocabulario. A mi papá Eduardo Masnatta por su análisis claro y su palabra precisa ante cada dificultad. A Carlos Borquéz quien en estos últimos años se coló en el coto privado de mi vida. De quien aprendí que no todo se ve mirando por una lupa. Gracias Carlos, por la simpleza, la humildad, por el amor. Y eternamente a Camilo Góngora y a Helena Borquez, por hacer rodar mi mundo bajo sus pies.

Y como la gente es maravillosa y este fue un proceso largo, y como tal no fue fácil, apareció Sandra Valente quien me brindó el tiempo y la contención necesaria para obtener el equilibrio emocional justo y darle fin a esta larga etapa. Muchas gracias Sandra.

Finalmente a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnología (Agencia), y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por haberme brindado las posibilidades de Becas sin las cuales no podría haber realizado esta tesis.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 Introducción	1
1.2 Materiales y Métodos	10
1.2.1 <i>Material vegetal</i>	10
1.2.2. <i>Descripción del sitio de estudio</i>	11
1.2.3. <i>Descripción de las especies y ciclo de cultivo</i>	12
1.2.4. <i>Descripción general de los experimentos y los tratamientos aplicados</i>	13
1.2.5. <i>Mediciones</i>	14
CAPÍTULO II: CAMBIOS EN LA ESTRATEGIA DE USO DE CARBONO ANTE VARIACIONES EN LA DISPONIBILIDAD DE FOTOASIMILADOS EN ESPECIES ANUALES Y PERENNES DE <i>PHYSARIA</i>	17
2.1 Introducción	17
2.2 Materiales y Métodos	22
2.2.1 <i>General</i>	22
2.2.2 <i>Análisis estadístico</i>	23
2.3 Resultados	24
2.3.1 <i>Tasa de crecimiento relativa (RGR) y biomasa total acumulada</i>	24
2.3.2 <i>Atributos morfo-fisiológicos y estrategias de partición de carbono</i>	28
2.3.3 <i>Reservas carbonadas</i>	31
2.4 Discusión	33
2.4.1 <i>Baja disponibilidad de fotoasimilados: Sombreado pre-antesis</i>	34
2.4.2 <i>Baja disponibilidad de fotoasimilados: Sombreado post-antesis</i>	36
2.4.3 <i>Alta disponibilidad de fotoasimilados: Remoción de yemas florales</i>	37
2.5 Conclusiones	38
CAPÍTULO III: RESPUESTAS DEL RENDIMIENTO Y SUS COMPONENTES A LA RELACIÓN FUENTE-DESTINO EN ESPECIES ANUALES Y PERENNES DE <i>PHYSARIA</i> (<i>BRASSICACEAE</i>).....	42
3.1 Introducción	42
3.2 Materiales y Métodos	45
3.2.1 <i>General</i>	45
3.2.1 <i>Mediciones y Observaciones</i>	45
3.2.2 <i>Análisis estadísticos</i>	46
3.3. Resultados	47

3.3.1 Efecto de la relación fuente-destino sobre el rendimiento de semilla y sus componentes.	47
3.3.2 Efecto de la relación fuente-destino sobre la duración de las etapas de pre y post-antesis.	49
3.3.3 Contribución relativa de los componentes del rendimiento a la producción de semillas.	49
3.4 Discusión	51
3.5 Conclusiones	53
CAPÍTULO IV: INFLUENCIA DE LA ACUMULACIÓN PREVIA DE HIDRATOS DE CARBONO EN LA RESPUESTA DE LAS ESPECIES PERENNES A LA MANIPULACIÓN DE LA RELACIÓN FUENTE DESTINO.	54
4.1 Introducción	54
4.2. Materiales y Métodos	57
4.2.1 General	57
Pre-tratamientos	57
Tratamientos	57
Diseño Experimental	57
4.2.2 Mediciones	59
4.2.3 Análisis estadístico.	59
4.3. Resultados	61
4.3.1 Efecto de los pre-tratamientos sobre la biomasa y las reservas.	61
4.3.2 Efecto de la historia previa de acumulación de reservas (pre-tratamientos)	62
4.3.3 Influencia de la historia previa de acumulación de reservas en el segundo año de cultivo.	64
4.3.4 Influencia de la historia previa sobre el patrón ontogénico durante el segundo año de crecimiento.	69
4.4 Discusión	75
4.5 Conclusiones	80
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN GENERAL.	82
RELEVANCIA Y DIRECCIONES FUTURAS.	89
Bibliografía	91

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1: Área de colección de las poblaciones naturales.....	10
Cuadro 1.2: Variables climáticas de los lugares de origen de las especies.....	11
Cuadro 1.3: Datos meteorológicos para los dos años de experimento	12
Cuadro 2.1: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre la tasa de crecimiento relativa (RGR).....	27
Cuadro 2.2: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre la acumulación de biomasa.....	28
Cuadro 2.3: Atributos morfológicos evaluados en pre-antesis.....	29
Cuadro 2.4: Atributos morfológicos evaluados en post-antesis.....	30
Cuadro 2.5: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre el contenido porcentual de hidratos de carbono en las raíces (TNC %)......	32
Cuadro 2.6: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre el contenido total de hidratos de carbono (TNC g).....	32
Cuadro 3.1: Efecto de relación fuente-destino sobre la duración de las etapas de pre y post- antesis.....	49
Cuadro 4.1: Cronograma de las cosechas realizadas para los distintos momentos fenológicos en los dos años de evaluación del ciclo perenne.....	59
Cuadro 4.2: Efecto de los Pre-tratamientos aplicados el primer ciclo de cultivo sobre la biomasa y su partición.....	63
Cuadro 4.3 A: Efecto de la historia previa de reservas carbonadas en plantas de <i>P. mendocina</i> sobre caracteres asociados a la productividad.....	67
Cuadro 4.3 B: Efecto de la historia previa de reservas carbonadas en plantas de <i>P. pinetorum</i> sobre caracteres asociados a la productividad.....	68
Cuadro 4.4: Efecto de la historia previa de reservas carbonadas en plantas de <i>P. mendocina</i> y <i>P. pinetorum</i> sobre caracteres asociados a la perennidad.....	75
Cuadro 4.5: Resumen de los resultados que explican el sentido de cambio de las funciones de crecimiento, reproducción y perennidad.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: A) Diferencias esperadas en el rendimiento entre especies de distinto ciclo de vida (anuales y perennes) B) Evidencia preliminar de la estabilidad del rendimiento.....	6
Figura 1.2: Ciclo de cultivo de las especies de <i>Physaria</i> en el Valle Inferior del río Chubut	13
Figura 1.3: Esquema de las cosechas del primer año de crecimiento.....	15
Figura 1.4: Esquema de cosechas para plantas de segundo ciclo de crecimiento.....	16
Figura 2.1: Efecto de la disponibilidad de radiación en la asimilación de CO ₂	24
Figura 2.2: Dinámica de la acumulación de biomasa para cuatro especies de <i>Physaria</i>	26
Figura 2.3: Biomasa total y RGR como indicadores del crecimiento de especies A) Anuales y B) Perennes de <i>Physaria</i>	34
Figura 2.4: Diagramas de araña para las dos especies anuales y para cada una de las perennes	39
Figura 3.1: Efecto de la relación fuente-destino sobre el rendimiento (A) y el peso de semilla (B).....	47
Figura 3.2: Efecto de la relación fuente-destino sobre el número de frutos por planta, para cuatro especies de <i>Physaria</i>	48
Figura 3.3: Efecto de la relación fuente-destino sobre el número de semillas por fruto... 48	48
Figura 3.4: Diagrama de vías para las cuatro especies juntas A) sombreado pre-antesis y B) remoción de yemas florales.....	51
Figura 4.1: Esquema del diseño experimental.....	58
Figura 4.2: Efecto de los pre-tratamientos fuente-destino sobre: A) la asimilación B)-la biomasa total C) la biomasa de raíz (g), D) TNC % y E) TNC g.....	61
Figura 4.3: Efecto de los pre-tratamientos fuente-destino sobre TNC %.....	64
Figura 4.4 A: Biomasa total, índice de cosecha (IC) y rendimiento en plantas de <i>P. mendocina</i> con distinta historia previa de reservas carbonadas.....	67
Figura 4.4 B: Biomasa total, índice de cosecha (IC) y rendimiento en plantas de <i>P. pinetorum</i> con distinta historia previa de reservas carbonadas.....	68
Figura 4.5: Dinámica de la concentración de TNC (TNC%), en plantas de <i>P. mendocina</i> y <i>P. pinetorum</i>	71
Figura 4.6: Biomasa de raíz y el contenido de TNC para <i>P. mendocina</i> y <i>P. pinetorum</i> en plantas con distinta historia previa de reservas carbonadas.....	75

DECLARACIÓN

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

Wanda Jimena Masnatta

ABREVIATURAS

- *RGR (mg g⁻¹ día⁻¹)** = Tasa de crecimiento relativa.
- *LMR (g g⁻¹)** = Relación de masa foliar.
- *LAR (cm²g⁻¹)** = Relación de área foliar.
- *SLA (cm²g⁻¹)** = Área foliar específica.
- *NAR (mg cm⁻² día⁻¹)** = Tasa de asimilación neta.
- *A (μmoles m⁻² s⁻¹)** = Tasa asimilación instantánea.
- *RMR** = Relación de biomasa de raíz.
- *TNC (%)** = Proporción de hidratos de carbono no estructurales.
- *TNC (g)** = Contenido de hidratos de carbono no estructurales.
- ER (gg⁻¹)** = Asignación de biomasa total a reproducción.
- ST₁** = Pre-tratamiento de sombreado en el primer ciclo de cultivo.
- R₁** = Remoción de yemas florales el primer ciclo de cultivo.
- C₁** = Plantas sin Pre-tratamiento durante el primer ciclo de cultivo.
- SV** = Sombreado en periodo vegetativo
- SR** = Sombreado en periodo reproductivo
- C** = Plantas sin tratamiento
- R** = Remoción de yemas florales
- DDT** = Días después del trasplante

*Siglas expresadas en inglés

RESUMEN

“COMPROMISOS EN LA ASIGNACIÓN DE RECURSOS, PERENNIDAD Y ESTABILIDAD DEL RENDIMIENTO, DURANTE EL PROCESO DE DOMESTICACIÓN DE HIERBAS XEROFITICAS.

Los cultivos perennes, en vez de los anuales, han sido propuestos como una nueva forma de agricultura sustentable, en particular en ambientes con limitaciones severas al crecimiento debido a la escasez de recursos. Como la mayoría de los cultivos no se han seleccionados para ambientes con estrés existe una necesidad de incorporar nuevas especies al conjunto de posibilidades. La correcta elección de criterios para determinar las especies apropiadas y el proceso de domesticación depende del desarrollo de un marco teórico de las estrategias de crecimiento, de sus mecanismos y de cómo éstos se modifican con la disponibilidad de recursos. En esta tesis se compararon las estrategias de crecimiento y la generación del rendimiento utilizando un modelo de cuatro especies congéneres anuales (*Physaria gracilis* y *P. angustifolia*) y perennes (*P. pinetorum* y *L. mendocina*), en experimentos de campo con tres factores: ciclo de vida, historia previa y relación fuente/destino actual. Las estrategias de adquisición y partición dependieron de la disponibilidad de asimilados y de la especie aunque no del ciclo de vida. Las especies anuales se ubicaron en un extremo adquisitivo del gradiente de asignación y en el otro extremo se ubicó la perenne *P. mendocina* con un crecimiento estable. *P. pinetorum*, la otra especie perenne, priorizó destinos en una forma similar a las especies anuales. Esta respuesta diferente de las dos especies perennes se confirmó en un experimento plurianual en el que se varió la relación fuente-destino en plantas con diferente historia previa. *P. mendocina* priorizó funciones de perpetuación (órganos de almacenamiento y reservas), mientras que en *P. pinetorum* el crecimiento actual y el rendimiento tuvieron prioridad por sobre funciones ligadas a la supervivencia y reproducción futura. Se concluyó que la estrategia adquisitiva de *P. pinetorum* genera una mayor sensibilidad a la disponibilidad de recursos. *Physaria mendocina*, de crecimiento moderado y una producción de semilla propia de una estrategia conservativa, sería el ideotipo más adecuado para sistemas productivos con baja disponibilidad de recursos.

Algunos de los criterios evaluados podrían usarse como adicionales al rendimiento en la selección en cultivos perennes. En particular, se propone al umbral de reservas que asegure la longevidad de la planta y algunos caracteres estructurales que muestran aproximaciones tempranas de procesos complejos de tolerancia, estabilidad y perennidad.

Palabras clave (excluidas del título): nuevos cultivos, zonas áridas, ciclo de vida, estrategia de crecimiento, longevidad, hidratos de carbono.

ABSTRACT

"TRADE-OFFS BETWEEN ALLOCATION OF RESOURCES, PERENNITY AND YIELD STABILITY, DURING THE PROCESS OF DOMESTICATION OF XEROPHYTIC HERBS.

Perennial crops have been proposed as an option for a sustainable production in low resource environments, such as arid lands. The understanding of the traits that are keys for growth strategies in perennials and their plasticity with resource variability is critical for the development of a framework to guide domestication: the election of promising species and the definition of new eco-physiological criteria for perennial improvement. I compared the plasticity of growth strategies and seed yield determination in an experimental system of four co-generic annual (*Physaria gracilis* and *P. angustifolia*) and perennial species (*P. pinetorum* and *P. mendocina*). I carried out fields experiments with three factors: species (life-cycle), previous plant C allocation (high and low C storage during the first year of growth) and current source-sink ratio (high and low availability of current photo-assimilates). Acquisition and allocation depended on availability of current photo-assimilates and species, but not of life-cycle.

Annuals species were located in the more acquisitive and plastic end of the spectrum of C allocation, while that in the conservative and more stable extreme was located the perennial specie *P. mendocina*. The other perennial, *P. pinetorum*, had a hierarchy C allocation under different conditions of previous- and current- photo-assimilates availability similar to annuals.

These differences between both perennial species were also supported in a multi-year experiment. In this experiment I assess the effect of previous C storage on the plasticity in C allocation during the second year of growth of plants with different treatments of source – sink ratio. *Physaria mendocina* allocated the C primarily to perpetuation functions (i.e. storage and storage organs), while *P. pinetorum* allocated it to growth and yield. I conclude that the acquisitive strategy of *P. pinetorum* make it more sensitive to resource availability. The slow growth and lower yield of *Physaria mendocina* were related to higher stability and turn this species as an option more suitable for low resources environments. I propose some of traits evaluated in this work as potential criteria of selection to improve yield while maintaining perennity. Specifically, a threshold of C stored at the end of each growth cycle that ensure plant longevity, and some structural traits that allow to predict early signals to complex process of stress tolerance, and yield stability.

Keywords (excluding title): new crops, arid regions, life cycle, growth strategy, longevity, carbohydrates.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Introducción

La agricultura actualmente utiliza una parte sustancial de los recursos naturales de la tierra. Los sistemas de producción de cultivos, pasturas y ganado de pastoreo ocupan el 38% de la superficie total del planeta (Wood et al. 2000). El agua utilizada para riego en estos sistemas de producción representa el 80% de toda el agua dulce que se consume (Rosegrant et al. 2002). El nitrógeno, otro recurso esencial para la agricultura, es aplicado como fertilizante a los sistemas agrícolas y comprende más del 50% de carga de N₂ reactivo atribuible a las actividades humanas (Smil 1999). La necesidad de tierras para la producción agrícola en el año 1995 se estimó en 1.657 millones de hectáreas (Mha) con una proyección de aumento de la demanda de la tierra cultivable de 2.436 Mha para el año 2025 (Cassman et al. 2003).

Esta superficie incluye tierra aún no cultivada debido a restricciones que generan mayores costos de producción o menores rendimientos. Entre los ambientes con restricciones severas, las zonas áridas y semiáridas ocupan casi dos quintos de la superficie total de los continentes y son el soporte donde se desarrolla la vida de más de mil millones de personas (Reynolds 2001). En estos ambientes, los cambios demográficos, tecnológicos y socioeconómicos han conducido a una presión excesiva sobre los recursos naturales que ha originado una intensa degradación del suelo, la cubierta vegetal y los procesos ecológicos, biogeográficos e hidrológicos. Resultado de estos procesos es la pérdida de la productividad biológica y económica englobada bajo el nombre genérico de desertificación (Puigdefábregas 1995, Reynolds 2001). Esta degradación es uno de los principales problemas ecológicos a nivel mundial, ya que se estima que afecta al 65-70% del total de zonas áridas y semiáridas (Reynolds et al. 2000).

En ambientes como la Patagonia extra-andina, con precipitaciones por debajo de los 200 mm, con vientos fuertes que causan altas tasas de evaporación, baja temperatura media anual y temperaturas extremas durante el invierno, se generan severas restricciones para el crecimiento de las plantas en una estación de crecimiento muy corta. En las zonas áridas del planeta, la desertificación aparece como el principal problema ecológico y productivo (del Valle et al. 1998) siendo una de las principales causas de la degradación de estos ecosistemas frágiles, el impacto negativo de las actividades agrícolas y ganaderas (sobrepastoreo, extracción de leña, monocultivo anual bajo riego, etc.). En la Patagonia en particular, este deterioro ecológico asociado al inadecuado uso de la tierra sumado a las severas restricciones ambientales, resulta en escasas opciones productivas sustentables que complementen la producción ovina (Ravetta y Soriano 1998). Por ello, el desarrollo de nuevos cultivos debería responder a criterios agro-ecológicos que contemplen las limitaciones ambientales que presenta la región. Una alternativa es el desarrollo de cultivos industriales a partir de la flora local (McLaughlin 1985; Ravetta y Soriano 1998).

En este sentido, los cultivos perennes han sido propuestos como una elegante solución a numerosos problemas para hacer frente a la agricultura moderna. Nuevos granos con nuevas historias de vida (perennes o anuales de invierno) podrían tener particularmente un alto impacto potencial, dado la gran huella económica y ambiental de los cultivos de cereales actuales y el potencial para remediar problemas ambientales en la agricultura con cultivos perennes (Brummer et al. 2011, Cox et al. 2006, Cox et al. 2010; Glover et al. 2010). Los granos perennes ayudarían a incrementar la calidad del agua, reducir la erosión del suelo, incrementar el carbono del suelo y mejorar el hábitat para la vida silvestre (Cox et al. 2006).

Sin embargo, muy pocas especies de grano han sido recientemente domesticadas (Meyer et al. 2012). Este hecho es debido, en parte, a las diferencias encontradas en las estrategias de asignación de recursos dentro de anuales y perennes, las cuales podrían resultar en respuestas diferenciales frente a fluctuaciones en la disponibilidad de recursos. Es decir, los caracteres asociados con la anualidad que capacitan para una rápida adquisición de carbono y mayor tasa de fotosíntesis (como mayor índice de área foliar y más N₂ foliar) apoyan, por un lado, una estrategia que resulta en mayor crecimiento en condiciones ambientales no limitantes (estrategia adquisitiva, Roumet et al. 2005). Pero, como contrapartida, determinan una menor tolerancia a la baja disponibilidad de recursos (mayor plasticidad, Roumet et al. 2005, Chapin et al. 1993).

Por su parte, los caracteres asociados con el ciclo perenne, como una mayor longevidad de los tejidos y mayor nivel de defensas (mayor inversión a raíz y reservas, hojas con menor área foliar y capacidad fotosintética; Chapin 1980, Chapin et al. 1993, Wyka 2000), estarían asociados con una estrategia conservativa en el uso de los recursos, con una mayor tolerancia a la sequía y un menor crecimiento potencial (menor plasticidad, Roumet et al. 2005).

Un componente central de la teoría de la evolución en la evaluación del fitness de las plantas perennes son las compensaciones entre los rasgos de la historia de vida (crecimiento, supervivencia y reproducción; Roff y Fairbairn 2007). Las compensaciones hacen referencia a las relaciones funcionales entre los rasgos de la historia de vida, las cuales dependen de la disponibilidad de recursos, estas correlaciones fenotípicas pueden ser negativas (indicando compromiso) en algunos ambientes y no significativas o aun positivas (ausencia de compromiso) en otros (Stearns 1989). Para considerar la factibilidad de los granos perennes parece razonable considerar un rango potencial de compromisos. Incluso los defensores de los cultivos de granos perennes han establecido que no se puede esperar altos rendimientos comparables a los granos anuales debido a las compensaciones entre la semilla y atributos de perpetuación (Wagoner y Schaeffer 1990).

Por otro lado, otros autores han sugerido que el compromiso solamente es necesario en el primer año, porque en años posteriores los recursos invertidos en la perennidad pueden ser usados para el crecimiento (Cox et al. 2002). Sin embargo, aquí se presenta otro cuestionamiento a la viabilidad de la domesticación de los granos perennes ya que las plantas perennes seleccionadas para producir la mayor cantidad de semillas deberán sacrificar necesariamente sus probabilidades de longevidad (Denison 2012). Esto es debido a que la producción de semillas de las accesiones mejoradas suele aumentar sólo durante el primer año y luego disminuye notablemente en años subsiguientes, es decir, se reduce la longevidad del cultivo (tendencia a la “anualización”, Piper 1992).

Sin embargo, la longevidad podría estar asociada con una mayor adquisición. Por lo tanto, una planta que viva un periodo más largo puede asignar menos de su total de recursos para la reproducción en forma de porcentaje, mientras que su cantidad absoluta puede aumentar. En la agricultura, un mayor índice de cosecha (unidades de grano por unidades de biomasa aérea) ha sido un camino importante para el rendimiento. Pero el rendimiento es el objetivo principal, no el índice de cosecha. Una pequeña cantidad de índice de cosecha podría ser sacrificada si la productividad total del sistema fuera incrementada (Dehaan y Van Tassel 2014). También otros autores han propuesto que el crecimiento compensatorio en plantas perennes estaría manejado por los productos de la fotosíntesis actual y no siempre implicaría el uso de las reservas almacenadas (Richards y Caldwell 1985). Así, puede ser posible duplicar la producción de semillas sin dejar de tener una planta perenne longeva ya que el

compromiso puede ser con otros potenciales destinos o no siempre ha sido encontrado (Obeso 2002).

Los mayores esfuerzos en el desarrollo de versiones perennes de cultivos ya establecidos se han hecho en cereales (por ejemplo, centeno, maíz, arroz y sorgo) y particularmente en mejoramiento de trigo perenne que es una opción en regiones agrícolas de secano (Wagoner 1990, Glover et al. 2010). Para el trigo, la domesticación y comercialización del cultivo perenne ha sido difícil, pero, por ejemplo, su hibridación con versiones perennes de otros cereales ha proporcionado material genético útil para la tolerancia a enfermedades, resistencia al frío, madurez temprana y tolerancia a la sequía en el trigo anual (Friebe et al. 1996).

La domesticación de plantas silvestres implica un proceso complejo que incluye varias etapas. El modelo de domesticación al que se adhiere en esta tesis consta de tres etapas, la primera de ellas evalúa las especies candidatas considerando un número de rasgos (valor del producto, potencial de rendimiento, facilidad de cosecha, bajos requerimientos de agua, provisión servicios ecosistémicos, etc.) que deben caracterizarse en poblaciones naturales y en parcelas introductorias y así determinar la factibilidad del esfuerzo de domesticación y los objetivos. En la segunda etapa se evalúan las estrategias en la adquisición y asignación de recursos de las plantas silvestres puestas en cultivo. Por último, en la tercera etapa se procede a generar un ideotipo de planta y cultivo y al mejoramiento para optimizar los rasgos seleccionados después de la domesticación inicial (transformando plantas silvestres en cultivos útiles, Dehann et al. 2016).

Algunos de los rasgos sugeridos que pueden ser usados para evaluar especies para su domesticación como un cultivo de grano serían: que sea fácilmente cosechable, que posea un grano similar al de los cultivos actuales, que posea un producto de alto valor agregado, que el recurso genético se encuentre disponible, que sea de fácil adaptabilidad, que tenga bajos requerimiento de input, que su cultivo lleve a un aumento de los servicios ecosistémicos y que tenga un bajo potencial para convertirse en invasiva o contaminar el patrimonio genético de las especies nativas. No se espera que las especies candidatas tengan todos estos rasgos, lo importante es considerar cada punto para ser explorado a fondo y balanceado en contra de otros para determinar la factibilidad y el esfuerzo del set de objetivos antes de iniciar el programa de domesticación (Dehann et al. 2016).

También se ha avanzado en la domesticación de oleaginosas perennes con idea de combinar el rendimiento de una especie anual con la longevidad de su silvestre perenne (Hulke et al. 2008, Kantar et al. 2014). La selección recurrente para aumentar la producción de semillas ha tenido éxito en dos especies perennes silvestres relacionadas con el girasol, *Helianthus maximiliani* y *Silphium integrifolium*. Cada especie silvestre tiene un conjunto diferente de características que limitan su utilidad como un cultivo de grano y cada una tiene únicas adaptaciones más allá del hábito perenne que podrían aumentar su valor o acelerar su domesticación. Por ejemplo, *S. integrifolium* tiene raíces profundas y es relativamente poco afectada por la sequía a corto plazo, mientras que *H. pauciflorus* es propagada fácilmente por reproducción asexual haciendo cultivares clonales factibles (Van Tassel et al. 2014).

En ambientes semiáridos, el comportamiento conservativo de las especies nativas en el uso de los recursos durante el crecimiento vegetativo es a menudo beneficioso. El crecimiento lento y por lo tanto el uso del agua también lento permiten conservar agua en el subsuelo para utilizarla posteriormente durante los períodos críticos de floración y fructificación, y así se logra una distribución estacional más productiva del uso del agua

(Harrison et al. 2011). En estos ambientes la habilidad de los cultivos para sobrevivir a severas condiciones de déficit hídrico, como también la habilidad para usar más eficientemente un suministro de agua limitado, involucra un conjunto de rasgos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos que influyen ambos componentes (Passioura 2012).

En este sentido Reynolds y Tuberosa (2008) y Richards et al. (2010) han discutido un amplio rango de rasgos para el mejoramiento del rendimiento en ambientes con deficiencia hídrica. Entre los más estudiados se encuentran: arquitectura foliar, vigor de las raíces, eficiencia en el uso del agua, almacenamiento y remobilización de carbohidratos, mantenimiento del área foliar verde (stay green, Jordan et al. 2012, Lopes y Reynolds 2012), crecimiento vigoroso de la plántula (Watt et al. 2005) y raíces profundas (Henry et al. 2011). Por su parte McLaughlin (1985), teniendo en cuenta las limitaciones estructurales y también considerando las económicas, definió una serie de criterios necesarios para evaluar a las especies consideradas promisorias zonas áridas: 1) que posean bajos requerimientos de agua, 2) que tengan tolerancia a las condiciones ambientales extremas de esas zonas, 3) que produzcan algún compuesto no “commodity” y de alto valor y 4) que no puedan ser cultivados en zonas con mayor disponibilidad hídrica. Ravetta y Soriano (1998), propusieron, además, un quinto criterio: la producción (Índice de cosecha) del compuesto motivo de cultivo debe ser promovido por las condiciones ambientales (estrés hídrico, temperaturas extremas, etc.) ya que son esas mismas condiciones las que limitan la producción de biomasa, el otro componente determinante del rendimiento.

Dentro de este contexto, aparecen las especies del género *Physaria* (syn *Lesquerella*, Brassicaceae). El género comprende unas 100 especies, y son principalmente plantas herbáceas con diferente ciclo de vida: anual, bienal o perenne (Rollins y Shaw 1973). Estas especies son originarias de zonas áridas y semiáridas de América y debido a la acumulación de aceite en la semilla son consideradas como cultivos potenciales (Kleiman 1990). Estos ácidos grasos hidroxilados pueden ser usados por la industria para la fabricación de resinas, ceras, nylons, plásticos, inhibidores de la corrosión, cosméticos y grasas lubricantes (Roethli et al. 1991, Dierig et al. 1993).

En Argentina el estudio para la domesticación de *Physaria* comenzó a fines de los años 90 (Ploschuk et al. 2001, Ploschuk et al. 2003, Windauer et al. 2004, 2005). Del conjunto de alrededor de 100 especies descritas en este género han sido elegidas por su potencial agronómico y su tolerancia a la sequía para la introducción en programas de domesticación y selección para zonas áridas (Dierig et al. 1993, Ploschuk et al. 2003, 2005, Windauer et al. 2004, González-Paleo y Ravetta 2011 a y b, Masnatta y Ravetta 2011): *Physaria fendleri*, *P. gracilis*, *P. angustifolia* (anuales), *P. mendocina* y *P. pinetorum* (perennes). En mi tesis se trabajó, salvo *P. fendleri*, con las cuatro especies restantes con diferente ciclo de crecimiento (anuales y perennes), las cuales se encuentran actualmente en las primeras etapas de la domesticación representadas por las etapas I y II anteriormente descriptas.

Todas las semillas de *Physaria* que han sido analizadas contienen ácidos grasos del grupo hidroxi (HFAs). Estos HFAs son similares a aquellos encontrados en el aceite de castor (*Ricinus communis* L.), que contiene ácido ricinoleico (C18: 1-OH). Las especies de *Physaria* producen ácido lesquerólico como el principal ácido graso de su semilla (C20-OH). Estos ácidos grasos sirven como materia prima en la producción de una variedad de productos como grasas, fluidos hidráulicos, aceites para motor (Roethli et al. 1991, Dierig et al. 2004). Productos de cuidado personal y farmacéuticos también contienen HFAs (Dierig et al. 2006).

Los esfuerzos dentro del género para producir un nuevo cultivo de aceite de semilla para zonas áridas en Estados Unidos se hicieron en torno a *Physaria fendleri*, una hierba

anual cuyas semillas contienen entre 53 y 60% de ácido lesquerólico con un contenido de aceite que puede variar del 20 al 28% y posee un potencial de rendimiento de 2500–3000 kg/ha (Dierig et al. 2011). Sin embargo, esta especie requiere más de 700 mm de irrigación para obtener estos rendimientos (Hunsaker et al. 1998) los cuales son comparables a los requerimientos del trigo de invierno (Thompson et al. 1989).

El contenido de aceite en las cuatro especies de *Physaria* reportadas en esta tesis difiere: *Physaria angustifolia* (anual) tiene el más bajo contenido de las cuatro especies con un 20% y su co-genérica *P. gracilis* posee un 29 %. Las perennes *P. mendocina* y *P. pinetorum* tienen 27 % y 24%, respectivamente. Sin embargo, estos valores superan a los encontrados en *P. flendleri* en parcelas de cultivo experimental en Arizona, el cual fue de alrededor del 20% (Salywon et al. 2004).

Para las especies de *Physaria* González-Paleo y Ravetta (2011) realizaron experimentos con dos anuales *P. angustifolia*, *P. gracilis* y dos perennes *P. mendocina* y *P. pinetorum*. Estos autores evaluaron caracteres asociados al crecimiento y la asignación de recursos: el área foliar específica (SLA cm^2g^{-1}), el índice de área foliar (LAR cm^2g^{-1}), la tasa de asimilación (A $\mu\text{moles CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), la asignación a semilla (IC%), la proporción de hidratos de carbono (TNC %) y el contenido de hidratos de carbono (TNC g) de reservas almacenado en raíces. Una de las principales conclusiones de estos experimentos fue que los atributos estructurales y funcionales elegidos como determinantes del crecimiento e involucrados en caracterizar las estrategias de asignación de carbono variaron en relación a la especie (especie-específico) y no fueron estrictamente dependientes del ciclo de vida. Así González-Paleo y Ravetta (2011) definieron, un gradiente en las estrategias de asignación en el cual las estrategias asociadas a la anualidad y a la perennidad representan extremos.

Estas diferencias en el patrón de asignación de especies de igual ciclo de vida, revelan que los patrones de asignación comparativos de anuales y perennes no pueden ser resumidos en respuestas universales (sensu Hautekeete et al. 2001). Este resultado apoya la hipótesis propuesta por DeHaan et al. (2005) de que el compromiso entre rendimiento y perennidad no es fijo, e indica que este grupo de especies de *Physaria*, de distinto hábito de vida, constituye un sistema de utilidad para estudios comparativos del costo que representan las distintas estrategias de reproducción (semélpara versus iterópara) sobre la asignación a funciones relacionadas con la supervivencia.

Asociado al compromiso diferencial entre rendimiento y estabilidad de anuales y perennes (Tollenaar y Lee 2002, Sinebo 2005, Blum 2005), autores como Bell et al. (2008) exponen que, si bien las especies anuales tendrían un rendimiento mayor en relación a las perennes, este sería más inestable ante condiciones de baja disponibilidad de agua en relación al esperado para especies perennes (Figura 1.1 A). En este sentido, resultados preliminares con *Physaria* aportan evidencia de la estabilidad de la producción de biomasa y del rendimiento asociada al ciclo de vida en ambientes con baja disponibilidad de recursos (Figura 1.1 B, González-Paleo 2005).

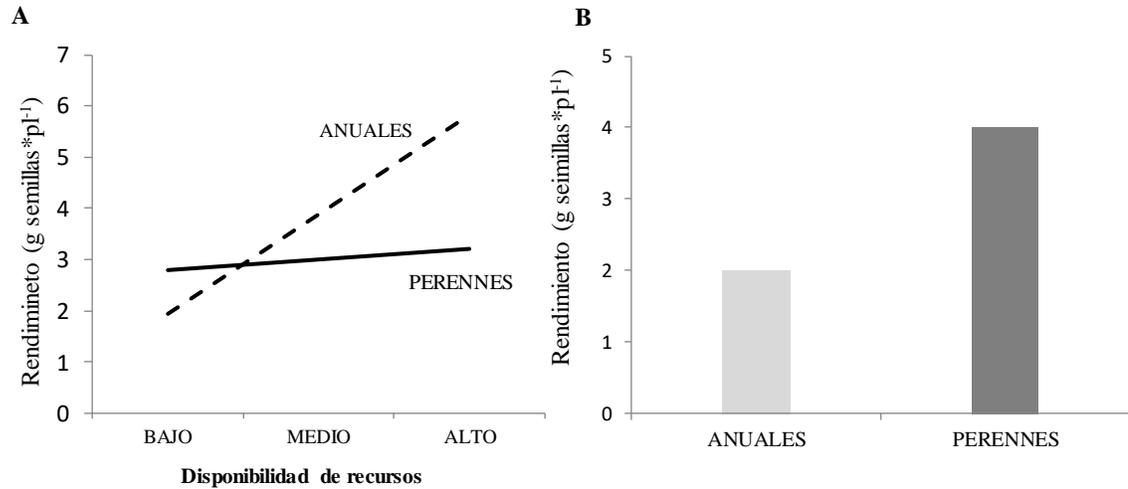


Figura 1.1: A) Diferencias esperadas en el rendimiento entre especies de distinto ciclo de vida (anuales y perennes) en condiciones de alta disponibilidad de recursos y la estabilidad de este atributo ante condiciones de baja disponibilidad de recursos. Se espera que las especies perennes posean un menor rendimiento, pero una mayor estabilidad. B) Evidencia preliminar de la estabilidad del rendimiento para las especies de *Physaria* creciendo en un jardín introductorio en condiciones de baja disponibilidad de recursos (Gaiman-Chubut, Argentina; frecuencia de riego de 20 días durante la etapa reproductiva. González-Paleo 2005).

Los agro-ecosistemas del futuro serán ecosistemas con estrés propio o inducido por el uso humano sin descanso. Así, el aumento de los rendimientos dependerá del mantenimiento de una brecha entre los rendimientos explotables y el uso de prácticas de gestión tendientes a mantener la calidad del suelo y reducir los efectos negativos de los cultivos en la calidad del medio ambiente (Cassam 2003). De acuerdo con lo propuesto por McLaughlin (1985), en ambientes de bajos recursos sería necesario no sólo seleccionar por rendimiento sino también incluir criterios secundarios, conformados por atributos determinantes de la estabilidad y la tolerancia a las condiciones ambientales extremas. Estos atributos determinantes de la estabilidad del rendimiento y la tolerancia están presentes como parte de estrategias conservativas, por lo cual es esperable que estén presentes con mayor frecuencia en especies perennes que en anuales (Chapin 1980, Chapin et al. 1993, Wyka 2000).

Dentro de los caracteres que modulan la expresión de la perennidad están aquellos que resultan en la asignación de carbono a órganos reproductivos en detrimento de los órganos vegetativos (Horvitz y Schemske 1988, Reekie y Bazzaz 1992). El balance de carbono es el resultado de interacciones fuente-destino, las cuales son moderadas por un número de factores que incluyen: capacidad buffer de los órganos de almacenamiento, capacidad de los destinos y control hormonal o nutricional (Wardlaw 1990). Por esta razón, el entendimiento de las respuestas del rendimiento ha avanzado en base a la comprensión de las alteraciones en la disponibilidad de asimilados durante las diferentes etapas fenológicas. Esto ha provisto una evidencia clara de que los cultivos experimentan alternativamente periodos en los que el rendimiento está principalmente limitado por la magnitud de la fuente, la capacidad de los destinos o co-limitado por ambos (Borras et al. 2002).

La magnitud de la movilización de hidratos de carbono de reserva durante el llenado de grano y la contribución de estos al rendimiento depende de cómo las diferentes especies son afectadas por la relación fuente-destino, la cual a su vez está fuertemente influenciada por las condiciones del ambiente (Sadras et al. 1993). Así, estas asociaciones involucradas en la variación de fotoasimilados no son estáticas y pueden cambiar a lo largo del período de desarrollo del cultivo (Cárcova et al. 2004).

En particular, en especies perennes, los hidratos de carbono de reserva tienen funciones adicionales, como las de amortiguar las demandas fisiológicas, de crecimiento y respiratorias, que no se encuentren sincronizadas con el período en el cual ocurre la fotosíntesis actual. Por ejemplo, una disminución en la capacidad de acumular hidratos de carbono puede comprometer no sólo la supervivencia (Lubbers y Lechowics 1989), sino también el crecimiento y la reproducción futura y la capacidad de perpetuación (Wyka 2000). Los hidratos de carbono de reserva también representan una fuente de carbono que es utilizada para la construcción de hojas y raíces al comienzo de la nueva estación de crecimiento (Chapin et al. 1990, Gaucher et al. 2005). La necesidad de reconstruir órganos de la planta puede surgir después de un período de inactividad programada (estación de dormición en especies perennes) y también después de un daño físico (especies perennes y anuales). Es por ello que el almacenamiento para las especies anuales es también adaptativo cuando la asignación a reproducción está en peligro (depredación de semilla; Chiarello y Roughgarden 1984).

En una estrategia de vida plurianual, la relación de compromiso entre la reproducción y la asignación de recursos a raíces y órganos de perpetuación genera preguntas acerca de la posibilidad de seleccionar especies perennes con una producción comparable a la de un cultivo anual, manteniendo los beneficios de la estructura y función de un ciclo vida perenne (Vico et al. 2016). No obstante, es importante tener en cuenta a la hora de evaluar perennes para su domesticación, que estas especies no son igualmente tolerantes a la sequía, a la competencia con las malezas o al secuestro de carbono (Van Tassel et al. 2014).

En este contexto, el entendimiento de las diferencias entre especies anuales y perennes en la regulación de las reservas carbonadas y su efecto en la productividad (de biomasa y semillas) y su estabilidad ante condiciones cambiantes de recursos es indispensable para comprender las distintas estrategias de crecimiento. El objetivo general de esta tesis es avanzar en el entendimiento de 1) la regulación de las reservas carbonadas en especies herbáceas anuales y perennes y su influencia sobre la acumulación de biomasa y la producción de semilla; 2) la caracterización de las diferencias en atributos morfo-fisiológicos asociadas a las estrategias de vida de especies herbáceas de zonas áridas con diferente ciclo de vida, principalmente aquellos determinantes del proceso de generación de biomasa y la tolerancia a la baja disponibilidad de recursos; 3) la identificación del rol de la historia previa de los hidratos de carbono en especies herbáceas perennes sobre la longevidad. La comprensión de estos mecanismos permitirá establecer ideotipos y estrategias de cultivo específicas para sistemas productivos de bajos recursos.

Dentro de este marco teórico se plantean los siguientes objetivos específicos:

1-Evaluar cómo la disponibilidad de fotoasimilados controla las estrategias de adquisición y partición de carbono en especies anuales y perennes de *Physaria*.

2-En las especies perennes, determinar la influencia de la historia previa de acumulación de hidratos de carbono sobre cambios en la estrategia de adquisición y partición de carbono, y su asociación con la supervivencia y estabilidad del rendimiento.

En torno a estos objetivos las hipótesis y predicciones que se pusieron a prueba fueron las siguientes

CAPÍTULO II y CAPÍTULO III.

Hipótesis 1: La disponibilidad de fotoasimilados determina diferencias dependientes del ciclo de vida, en las estrategias de adquisición y partición de carbono.

Asociado a esta hipótesis se predice que:

Predicción 1.1: Las especies anuales modificarán su estrategia dependiendo de la disponibilidad de fotoasimilados. Así, con alta disponibilidad tendrán una estrategia adquisitiva: gran asignación a estructuras de crecimiento y reproducción, alto índice de área foliar y área foliar específica. El cambio en estos atributos se traducirá en un incremento de biomasa total, la tasa de crecimiento relativa (RGR) y en la asignación a reproducción (esfuerzo reproductivo, ER). Por el contrario, con baja disponibilidad de fotoasimilados presentarán una estrategia más conservativa: con baja asignación a biomasa total, baja tasa de crecimiento relativa (RGR) y menor índice de área foliar, lo cual se traducirá en una disminución en la asignación a reproducción (ER).

Predicción 1.2: Las especies perennes, aún con diferencias en la disponibilidad de asimilados (sombreado o eliminación de estructuras reproductivas), mantendrán una estrategia conservativa en el uso de los recursos: una baja asignación a semillas, a expensas de una asignación proporcional preferencial a raíz, biomasa vegetativa e hidratos de carbono de reserva. El comportamiento de los atributos estructurales y funcionales resultará en una producción de biomasa y asignación a reproducción (ER) estable a lo largo de un gradiente en la disponibilidad de carbono.

Predicción 1.3: Las diferencias en el patrón de asignación de especies anuales y perennes determinaran en las perennes una mayor estabilidad del rendimiento ante cambios en la disponibilidad de asimilados (relación fuente-destino), en relación a sus co-genéricas anuales.

Predicción 1.4: Debido a que el peso de la semilla es el componente del rendimiento más homeostático (Harper 1967), la variación del rendimiento debido a modificaciones en la relación fuente-destino, estará determinado por cambios en el número frutos por planta y el número de semillas por fruto.

Predicción 1.5: En las especies anuales la alta disponibilidad de fotoasimilados determinará una mayor asignación a rendimiento, como consecuencia de una mayor duración de la etapa reproductiva y una mayor producción de frutos. Por el contrario, en las especies perennes la duración de la etapa reproductiva no se verá modificada y como consecuencia el rendimiento y sus componentes se mantendrán estables.

CAPÍTULO IV

Hipótesis 2: En las especies perennes la historia previa de acumulación de hidratos de carbono de reservas determina diferencias en las estrategias de adquisición y partición de carbono actual y estas diferencias están asociadas al grado de perennidad.

Asociado a esta hipótesis se predice que:

Predicción 2.1:

A)-Los individuos de especies perennes con gran acumulación de hidratos de carbono de reserva en el primer ciclo de cultivo responderán a una baja disponibilidad de foto-asimilados durante el segundo ciclo de cultivo y priorizarán la asignación a almacenamiento y a estructuras de perpetuación como consecuencia de una menor asignación a caracteres productivos (biomasa, rendimiento e índice de cosecha).

B)-Los individuos de especies perennes con gran acumulación de hidratos de carbono de reserva en el primer ciclo de cultivo responderán a una mayor disponibilidad de foto-asimilados durante su segundo ciclo y priorizarán la asignación a crecimiento y a semilla sobre el almacenamiento.

Predicción 2.2: Los individuos de especies perennes con una baja acumulación de hidratos de carbono de reserva durante el primer ciclo de crecimiento priorizarán la asignación de recursos a almacenamiento y a órganos de perpetuación a expensas de la asignación a semillas. Esta respuesta será más fuerte que los cambios producidos por diferencias en la disponibilidad actual de foto-asimilados.

ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

En el capítulo 2 de esta tesis se evaluaron, en especies anuales y perennes de *Physaria*, las estrategias de asignación de carbono frente a variaciones en la disponibilidad de asimilados. Esto se realizó por análisis de la tasa de crecimiento relativa (RGR) y los atributos morfo-fisiológicos asociados al crecimiento (LAR, LMR, SLA, TNC, ER) (Hipótesis 1, Predicciones 1.1 y 1.2). En el capítulo 3, se presentan las respuestas del rendimiento y sus componentes a la relación fuente-destino. Aquí se evaluó el rendimiento como gramos de semillas por planta y sus componentes, número de frutos por planta, número de semillas por fruto y peso de la semilla (Hipótesis 1, Predicción 1.3, 1.4 y 1.5). En el capítulo 4 se determinó la influencia de la historia previa de acumulación de hidratos de carbono de reserva en la respuesta de las especies perennes a la manipulación fuente-destino. Se evaluó en este capítulo el rendimiento (gramos de semilla) y los caracteres que lo definen como la biomasa total y el IC (%) y los caracteres asociados a la perennidad como biomasa de raíz y el porcentaje y contenido de hidratos de carbono no estructurales (Hipótesis 2, Predicciones 2.1 y 2.2). La metodología general de las mediciones es descrita en la sección materiales y métodos de este capítulo introductorio. El diseño experimental utilizado para poner a prueba las hipótesis se presenta en cada capítulo con sus detalles específicos.

1.2 Materiales y Métodos

Para poner a prueba las hipótesis y sus predicciones asociadas se realizaron dos experimentos plurianuales en condiciones de campo en el Valle inferior del Río Chubut, ambos con diseños completamente aleatorizados. En los experimentos se utilizaron cuatro especies del género *Physaria* a las que se les aplicaron tratamientos de corte de botones florales y sombreado en distintos momentos del ciclo de vida, con el objetivo de variar la disponibilidad de fotoasimilados y los destinos de estos recursos.

Se ha elegido a *Physaria* como sistema de estudio pues, además de ser especies con potencial para su domesticación y cultivo, se cuenta con suficiente información experimental previa sobre las diferencias en el ciclo de vida, la longevidad y algunos de los caracteres estructurales y funcionales asociados a tales diferencias (Dierig et al. 1993, Ploschuk et al. 2003, 2005, Windauer et al. 2004, González-Paleo y Ravetta 2011 a y b, Masnatta y Ravetta 2011). Además, el sistema permite hacer inferencias sobre el desarrollo de nuevos cultivos para zonas áridas y proveer sustento a la incipiente teoría que sustenta el desarrollo de cultivos perennes, pero dentro del marco concreto de la domesticación de *Physaria*.

1.2.1 Material vegetal

Los miembros del género *Physaria* (*Brassicaceae*) pueden ser reconocidos por su agrupamiento basal de hojas grisáceas, tallos elongados con flores amarillas y frutos ovalados o redondos denominados silículas (Marriott 1992). Tienen hábito de crecimiento indeterminado, vale decir, el crecimiento vegetativo continúa durante la fase reproductiva.

Se utilizaron cuatro especies que difieren en el ciclo de vida (Rollins y Shaw 1973) y en el área de origen (Cuadro 1.1). Dos de las especies son anuales: *P. angustifolia* (Nutt.) Wats. y *P. gracilis* (Hook.) Wats., y dos perennes: *P. pinetorum* (Wooton y Standley) y *P. mendocina* (Phil.) Kurtz.

Para las especies perennes descritas en el Cuadro 1.1, estudios comparando atributos asociados al crecimiento y la longevidad (González- Paleo y Ravetta 2011 a y b, Masnatta y Ravetta 2011) encontraron que *P. mendocina* puede alcanzar un número de ciclos de vida mayor que el de su co-genérica *P. pinetorum*. También evidencia reciente (González-Paleo y Ravetta 2015) estableció que algunos caracteres asociados al crecimiento de *P. pinetorum*, son más cercanos a lo esperable para una especie anual que para una perenne. Estas diferencias son las que determinan a *P. mendocina* como largamente perenne en relación a su co-genérica *P. pinetorum*.

Cuadro 1.1: Área de colección de las poblaciones naturales de las cuales se recolectaron las semillas (por lo menos de 10 poblaciones silvestres por especie) de las cuatro especies de *Physaria*.

Especie	Origen y sitio de colección	Ciclo de vida
<i>P. gracilis</i>	Oklahoma y Texas, USA	Anual
<i>P. angustifolia</i>	Oklahoma y Texas, USA	Anual
<i>P. pinetorum</i>	Arizona, USA	Perenne
<i>P. mendocina</i>	La Pampa, Argentina	Largamente perenne

Los ambientes de origen de las cuatro especies de *Physaria* evaluadas son similares entre sí y al sitio de estudio (Gaiman, Argentina) en cuanto a que presentan un clima de tipo mediterráneo, es decir, con una estación invernal fría y con heladas, y veranos calurosos y secos, con marcados déficit hídricos (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2: Variables climáticas de los lugares de origen de las especies de *Physaria* evaluadas en este trabajo (*P. gracilis* y *P. angustifolia* de Oklahoma y Texas, *P. pinetorum* de Arizona, *P. mendocina* de La Pampa) y del ambiente objetivo o sitio de estudio (Gaiman). Fuente: The Weather Channel. <http://weather.com/climate>

	Oklahoma (Boise City)	Texas (Amarillo)	Arizona (Tucson)	La Pampa (Lihué-Calel)	Chubut (Gaiman)
Precipitación (mm)	470	501	303	400	182
Temperatura máx. mensual promedio (°C)	22	21	29	25	25
Temperatura mín. mensual promedio (°C)	4	7	15	7	1
Temperatura mín. absoluta (°C)	-12	-9	-7	-8	-12
Período con heladas (meses)	3	3	5	4	6

1.2.2. Descripción del sitio de estudio

El sitio experimental está localizado en Gaiman Chubut (43°17S´65°18W´), en el Valle Inferior del Río Chubut (VIRCh), dentro del ecotono Monte-Patagonia. Conforme a los registros meteorológicos que realizó la Estación Agro-meteorológica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) estación Trelew, por el período de treinta años (1971–2000), el tipo climático es templado-frío-ventoso con una radiación fotosintéticamente activa incidente de 1898,8 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Este es un ambiente de tipo Mediterráneo, pero con posibilidad riego desde primavera temprana hasta principios de otoño.

Las precipitaciones ocurren predominantemente durante el invierno y la humedad del suelo declina rápidamente durante la primavera y el verano. Las plantas generalmente tienen una adecuada humedad del suelo para el crecimiento durante el período vegetativo, pero se torna deficitario desde la floración hasta la madurez (Richards 1991). Las escasas precipitaciones distribuidas a lo largo del año poseen un promedio de 181,9 mm. La temperatura mínima absoluta es de $-12, 0^{\circ} \text{C}$ mientras que la máxima absoluta supera los $38, 0^{\circ} \text{C}$. La presencia de heladas cubre 169 días como promedio y es una condición de suma importancia para la producción del valle.

El balance hídrico resulta negativo prácticamente durante todo el año, pero principalmente desde fines de primavera hasta fines de verano. Este período coincide con las altas temperaturas y con una mayor demanda atmosférica. De esta manera, la posibilidad de realizar cultivos en el VIRCh está dada por el riego, el cual tiene una etapa que se extiende desde septiembre a fines de abril.

Durante los años de experimento, las temperaturas fueron ligeramente inferiores al promedio histórico (Cuadro 1.3). Respecto a las precipitaciones, si bien son inferiores al promedio histórico, este hecho es poco relevante para las plantas de las parcelas debido a que estas fueron irrigadas y no dependieron de la cantidad de precipitación caída en los años de experimento. Así, para homogenizar la disponibilidad de agua se suministró riego a cada parcela con una frecuencia de 20 días. Con cada riego humedeció una capa de 20 cm de

profundidad, lo cual fue tomado como riego a saturación. Se siguió semanalmente la variación en el contenido de agua en el suelo mediante bloques de resistencia eléctrica ubicados a 0,20 m de profundidad.

Cuadro 1.3: Datos meteorológicos para los dos años de experimento y el promedio histórico para el Valle Inferior del Río Chubut-Argentina. Fuente: INTA-EEA Chubut.

<https://inta.gob.ar/paginas/agrometeorologia-chubut>

	2008/2009	2009/2010	Promedio Histórico
T° media mínima anual (°C)	4,95	4,65	6,01
T° media anual (°C)	12,2	11,8	13,37
T° media máxima anual (°C)	20,05	19,55	20,96
Precipitación anual (mm)	108,5	99,35	181,9

1.2.3. Descripción de las especies y ciclo de cultivo

Para la producción de las especies promisorias en Patagonia, todavía no se ha desarrollado la tecnología de siembra directa y el establecimiento del cultivo se realiza por medio del trasplante manual de plantines. La siembra se realiza en el mes de febrero, dado que la temperatura óptima para la germinación es de 20°C. Las semillas germinan aproximadamente una semana después y las plántulas permanecen en el invernáculo hasta el momento de su trasplante a campo. La fecha recomendada para el trasplante en el VIRCh es a principios del mes de abril. Luego del trasplante, las plántulas permanecen en estado vegetativo (roseta) durante todo el invierno mostrando un crecimiento lento debido a las bajas temperaturas. La etapa reproductiva comienza con la aparición de las yemas florales y la elongación del escapo floral a principios de primavera. Durante la etapa reproductiva el crecimiento es más rápido y se acumula la mayor proporción de la biomasa. El inicio de la floración ocurre en octubre y se extiende hasta finales del verano, dependiendo de la especie (Figura 1.2).

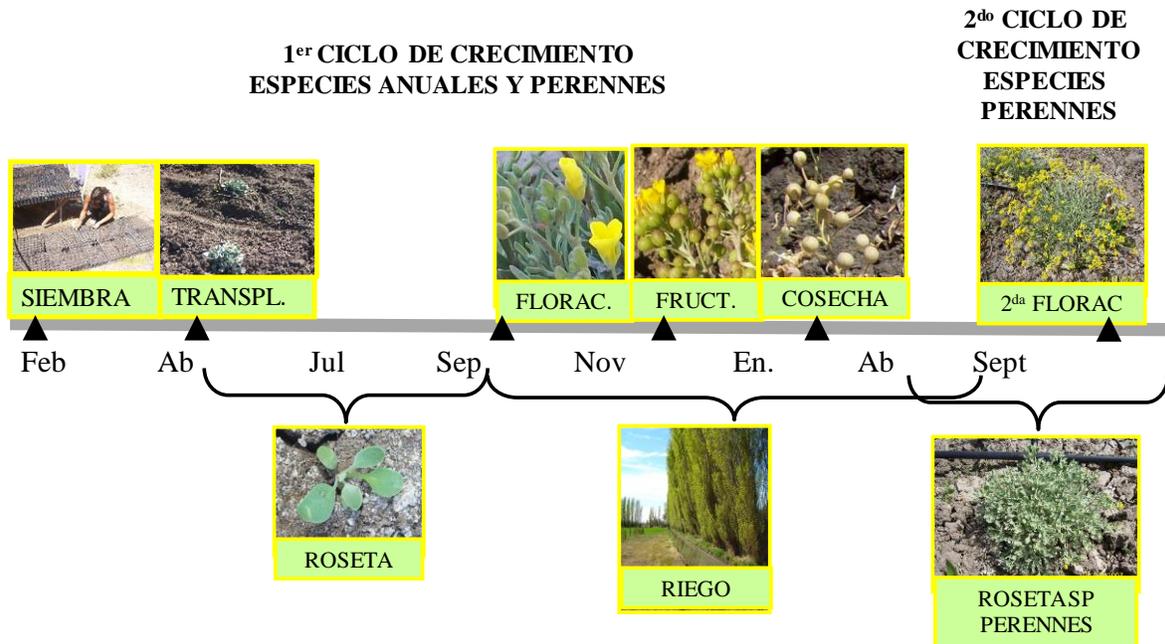


Figura 1.2: Ciclo de cultivo de las especies de *Physaria* en el Valle Inferior del río Chubut.

1.2.4. Descripción general de los experimentos y los tratamientos aplicados.

Para poner a prueba las hipótesis planteadas se generaron dos experimentos de campo. Por un lado, el experimento 1 el cual se realizó durante el período 2008-2009 y se repitió en el período 2009-2010. Este experimento incluyó a las 4 especies del género *Physaria* (syn *Lesquerella*, Brassicaceae): dos de ciclo anual: *P. angustifolia* y *P. gracilis* y dos perennes: *P. pinetorum* y *P. mendocina*. Las cuatro especies de *Physaria* fueron sometidas a cuatro niveles de variación fuente-destino. Y por otro, el experimento 2 que incluyó solo a las especies perennes *P. mendocina* y *P. pinetorum*, y se ejecutó durante el periodo 2008-2010. Para estas especies perennes se establecieron 3 pre-tratamientos de variación fuente-destino durante el primer ciclo de cultivo (2008-2009), para luego durante el segundo ciclo (2009-2010) someterlas a los cuatro tratamientos de las plantas del experimento 1. Los detalles de los diseños experimentales de ambos experimentos se muestran en cada uno de los capítulos de este manuscrito.

Tratamientos

Los tratamientos de relación fuente-destino, fueron generados por: sombreado, durante las etapas de a) pre y b) post-antesis, c) remoción de botones florales y d) control, plantas sin ningún tratamiento. Estos tratamientos tuvieron como objetivo disponer de grupos de plantas con diferente disponibilidad de fotoasimilados.

Sombreado

El sombreado se realizó utilizando redes de media sombra con una malla que intercepta el 65% de la radiación solar incidente y fue aplicado en dos periodos: pre-antesis (inicio del crecimiento post-invernal, estadio de roseta, hasta el momento de floración) y post-antesis (desde floración plena hasta madurez fisiológica).

Remoción de botones florales

Se generaron dos niveles de disponibilidad de botones florales siguiendo una metodología usada en estudios anteriores (Horvitz y Schemske 1988, McLaughlin 2003, Sandvik 2001): (1) para cada planta se removieron, diariamente durante el estadio fenológico de botón floral, la mitad de los botones florales de cada uno de los tallos floríferos y (2) plantas intactas, sin remoción de estructuras reproductivas. El tratamiento de remoción fue iniciado cuando el 50% de las plantas de la parcela alcanzaron el estado fenológico de botón floral.

1.2.5. Mediciones

A)-Experimento 1

Disponibilidad de foto-asimilados

El suministro de fotoasimilados fue cuantificado midiendo la tasa de asimilación de CO₂ ($\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por unidad de área foliar, el área foliar de la planta y el contenido de carbohidratos de reserva por planta. Así, la tasa de asimilación de CO₂ ($\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue medida en una hoja completamente expandida y sin signos de deterioro, en 18 plantas por especie para cada tratamiento de disponibilidad de irradiancia (100 % y 65% de la disponibilidad de PPFD).

Las mediciones se realizaron entre las 12:00 y 14:00 hs, en los estados fenológicos de elongación-floración (pre-antesis, 14 de septiembre-4 de octubre de 2012) y floración-fructificación (post-antesis 12 de octubre-22 de noviembre), utilizando un analizador de gases infrarrojo portátil ADC-LCA-4 (Hoddesdon, England).

Fenología

Se siguió la dinámica del desarrollo con mediciones semanales del número de plantas que alcanzaron los diferentes estadios fenológicos. Se utilizó la escala desarrollada por Windauer et al. (2004): aparición del botón floral, floración, fructificación y madurez fisiológica. A partir de estos datos se calculó la duración del ciclo de crecimiento (días hasta la fructificación plena) y la fecha de floración. Por otra parte, cada una de las cosechas detalladas posteriormente se realizó cuando el 50% de las plantas de un tratamiento alcanzaron cada estado fenológico.

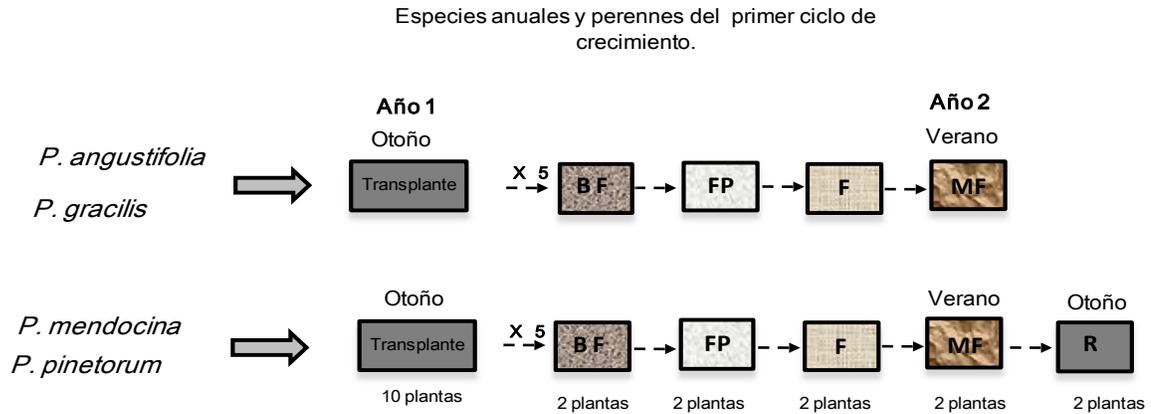
Supervivencia

Se determinó la supervivencia luego del invierno, como la relación entre el número de individuos vivos y el número de individuos iniciales (10 plantas/parcela, 12 parcelas por especie para un total de 120 plantas).

Patrones de partición y atributos morfológicos

Se cosecharon dos plantas por cada repetición para un total de 10 plantas por tratamiento en los siguientes estadios fenológicos: 1) aparición del botón floral, 2) floración Plena, 3) fructificación, 4) madurez y 5) estado de roseta post-fructificación, este último estadio sólo para las especies perennes (Figura 1.3)

Figura 1.3: Esquema de las cosechas del primer año de crecimiento para las cuatro especies de *Physaria*: trasplante; cosechas en botón floral (BF), floración plena (FP); fructificación (F), madurez fisiológica (M) y estado de roseta post-fructificación (R), este último solo para las especies perennes.



En cada una de las cosechas la biomasa de las plantas se dividió entre órganos: raíces, tallos, hojas, frutos y semillas. Se determinó el área foliar total por planta utilizando UTHSCSA Image Tool for Windows, versión 2.02. Después de escanear las hojas, fueron secadas a 70°C durante 48 h y pesadas. Se estimó la proporción de la biomasa total destinada a cada órgano: hojas (LMR leaf mass ratio o relación de área foliar, g hoja x g biomasa total⁻¹), raíces (RMR root mass ratio o relación de biomasa de raíz, g de raíz x g de biomasa total⁻¹), tallos (SMR stem mass ratio o relación de g de tallo x g de biomasa total⁻¹).

Los datos de base fueron utilizados para calcular el área foliar específica (SLA, specific leaf area, relación entre el área foliar y la biomasa foliar) y la relación de área foliar (LAR, leaf area ratio, relación entre el área foliar y la biomasa total).

Para cada una de las cosechas especificadas arriba se determinó el rendimiento como gramos de semilla por planta (g de semilla x planta⁻¹) y el esfuerzo reproductivo (ER, relación de g biomasa reproductiva x g de biomasa total⁻¹), como los gramos de biomasa asignada a estructuras reproductivas (tallos reproductivos, semillas y silículas) en función de los gramos de biomasa total (biomasa aérea y radical; Reekie y Bazzaz 1987).

También se evaluaron los hidratos de carbono de reserva no estructurales (TNC, del inglés total non-estructural carbohydrates), almacenados en raíces en cada una de las cosechas especificadas arriba. Los TNC son los hidratos de carbono que no están implicados en la formación de estructura y constituyen los elementos de reserva (azúcares, almidón y algunos glucósidos). Se determinó la concentración (TNC %), y el contenido (TNC g) de hidratos de carbono no estructurales. Para evaluar la concentración (TNC %) se tomó la biomasa de raíz (250 mg) de cada planta y se le agregó 70 ml de 10% (v/v) de ácido clorhídrico a 100°C por 1 hora. Con este método el almidón es hidrolizado a glucosa e incorporado a unidades de monosacáridos presentes en la muestra. La glucosa en el extracto hidrolizado puede ser determinada colorimétricamente usando reactivos antrona, de acuerdo al método de Yemm y Willis (1954). El contenido total de carbohidratos no estructurales fue calculado como la concentración de TNC en raíces (TNC %) x la biomasa de raíz (Kobe et al. 2010).

Se calculó la tasa de crecimiento relativa (RGR del inglés relative growth rate) y la tasa de asimilación neta (NAR del inglés net assimilation rate) para cada especie de acuerdo

a Hunt et al. (2002) y Hoffmann y Poorter (2002; Ec. 1 y 2), para los distintos periodos evaluados: periodo I- desde roseta a botón floral; periodo II- desde botón floral a floración; y periodo III- desde floración a fructificación. La RGR_{total} se calculó con la biomasa estimada en dos fechas de muestreo para el periodo desde roseta hasta fructificación plena, para evitar el efecto de la senescencia foliar durante la madurez fisiológica.

$$RGR \text{ (mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}\text{)} = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

$$NAR \text{ (mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}\text{)} = ((B_2 - B_1) * (\ln LA_2 - \ln LA_1)) / (t_2 - t_1) * (LA_2 - LA_1) \quad (2)$$

Donde 2 y 1 se refieren a dos cosechas consecutivas, B es la biomasa total, LA es el área foliar total por planta y t es el tiempo.

B)-Experimento 2

En este experimento se realizaron 4 cosechas de 5 plantas por tratamiento (1 planta de cada sub-sub parcela, para cada tratamiento y especie, de 5 parcelas principales o repeticiones) en cada estado fenológico. Al finalizar el primer año de cultivo se caracterizó el contenido y porcentaje de hidratos de carbono no estructurales (TNCg, TNC%) y la biomasa total acumulada. De esta forma se cuantificó el efecto de los pre-tratamientos y se logró llegar al segundo año del experimento con tres grupos de plantas, que difirieron en su biomasa y en sus hidratos de carbono no estructurales (TNC). En el segundo año del experimento se realizaron las cosechas detalladas en la Figura 1.4.

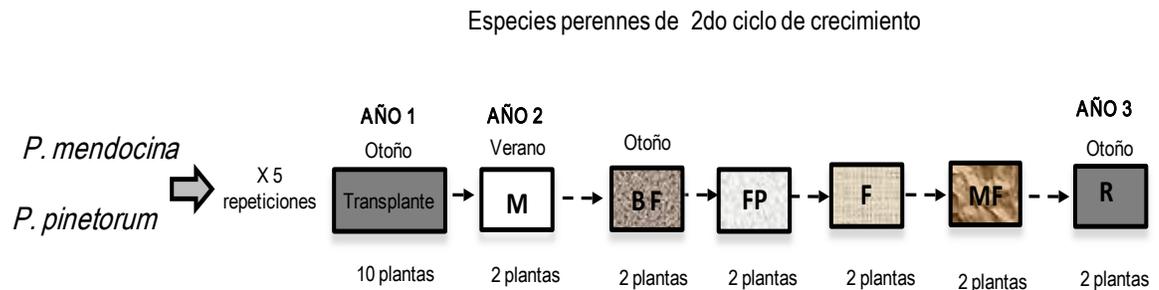


Figura 1.4: Esquema de cosechas para plantas de segundo ciclo de crecimiento para las especies perennes de *Physaria*: Madurez (M) Botón floral (BF); Floración plena (FP); Fructificación (F); Madurez (M) y Estado de roseta (R).

Las mediciones para el segundo año y el análisis del patrón de partición de biomasa como la determinación del porcentaje y el contenido de las reservas carbonadas TNC fueron realizadas de acuerdo a lo descrito en el experimento 1.

CAPÍTULO II: CAMBIOS EN LA ESTRATEGIA DE USO DE CARBONO ANTE VARIACIONES EN LA DISPONIBILIDAD DE FOTOASIMILADOS EN ESPECIES ANUALES Y PERENNES DE *PHYSARIA*.

2.1 Introducción

La necesidad de diversificación de la producción agrícola es un objetivo de la agronomía, pero en muchos casos está limitada por la falta de opciones productivas alternativas, como sucede en las áreas con condiciones de aridez (Bates 1985). En particular en la Patagonia, las precipitaciones escasas y variables imponen severas restricciones al crecimiento y a la supervivencia de las plantas, que experimentan sequía en distintos momentos (Soriano 1956). La puesta en cultivo de especies nativas productoras de compuestos de uso industrial ha sido propuesta como una alternativa económica para estos ambientes (Ravetta y Soriano 1998). En este proceso, la generación de rendimientos económicos ha sido el objetivo central y es la razón por la cual, en general, el rendimiento sigue siendo el principal criterio de selección en especies con potencial de uso (Thompson 1994, Dierig et al. 1993). Sin embargo, debido a la fragilidad intrínseca de los ecosistemas áridos (Giménez et al. 1997) es imprescindible incorporar durante el proceso de domesticación criterios relacionados con la sustentabilidad ecológica y con la estabilidad interanual del rendimiento.

En general, las especies nativas de ambientes áridos tienen bajos requerimientos de recursos, debido a que están adaptadas a las condiciones de los ambientes que habitan (Oppenheimer 1960), y por lo tanto, su cultivo necesita de menores subsidios de energía (McLaughlin 1985), y suelen generar menor deterioro del ambiente que los cultivos tradicionales (Black 1984). Si bien se han identificado algunos caracteres estructurales y/o funcionales potencialmente favorables para incorporar en la domesticación de nuevos cultivos para zonas áridas (por ejemplo, en jobo Benzioni y Dunstone 1986, en *Grindelia*, Zavala y Ravetta 2001 y 2002, Wassner y Ravetta 2005, en *Physaria*, Ploschuk et al. 2003, 2005, González-Paleo y Ravetta 2011), no se han definido ideotipos de cultivo para estos sistemas productivos (McLaughlin 1985, Ravetta y Soriano 1998).

En ambientes semiáridos, el comportamiento conservativo en el uso de los recursos durante el crecimiento vegetativo es a menudo beneficioso. El crecimiento lento, y por lo tanto el uso del agua también lento, permite conservar agua en el subsuelo para utilizarla posteriormente durante los períodos críticos de floración y fructificación, y así se logra una distribución estacional más productiva del uso del agua (Harrison et al. 2011). En estos ambientes la habilidad de los cultivos para sobrevivir a severas condiciones de déficit hídrico, como también la habilidad para usar más eficientemente un suministro de agua limitado, involucra un conjunto de rasgos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos que influyen ambos componentes (Passioura 2012). Reynolds y Tuberosa (2008) y Richards et al. (2010) han discutido un amplio rango de rasgos característicos para mejorar el rendimiento en ambientes limitados por agua, los cuales incluyen el vigor inicial, la arquitectura foliar, el vigor de la raíz, la eficiencia de la transpiración y la remobilización de hidratos de carbono a otros frutos.

En este sentido, existen diferencias entre especies anuales y perennes en el rendimiento potencial y la tolerancia a la baja disponibilidad de recursos, que surgen de un conjunto de atributos morfo-fisiológicos así como del patrón de asignación de recursos, que determinan estrategias de crecimiento y de tolerancia a la sequía diferentes (Harper y Ogden 1970, Hegazy 1990, Hegazy y Ismail 1992). En general, estos aspectos han sido tratados preferentemente por ecólogos preocupados por entender de qué manera las plantas enfrentan

y sobreviven a condiciones de estrés. Por el contrario, los agrónomos han estado más interesados en la obtención de máximos rendimientos por lo que la investigación se ha orientado a seleccionar máximos rendimientos potenciales y a definir condiciones óptimas de crecimiento a través de riego, fertilización y control de plagas y malezas. En el contexto de analizar la domesticación de especies silvestres, varios autores han adherido a la teoría de adquisición de recursos provista por la ecología (Grime 1977, Chapin 1980, Poorter y Garnier 1999, Aerts y Chapin 2000, Wilson y Cooper 1969, Garnier 1992, Waremburg y Estelrich 2001, Roumet et al. 2005). Esta teoría caracteriza la estrategia de ciclo anual como de rápido crecimiento, en contraposición a las de ciclo perenne, con crecimiento lento.

Las especies anuales priorizan la asignación a crecimiento y reproducción (alta tasa de crecimiento relativa y biomasa, alta tasa de asimilación de CO₂, alta área foliar específica y baja inversión a reservas carbonadas, Harper 1967, Hegazy 1992). Por ello han sido las primeras en entrar en un circuito de domesticación. Por el contrario, las especies perennes priorizan el almacenamiento y mantenimiento (Schaffer et al. 1982, Chiarello y Roughgarden 1984, Iwasa y Kubo 1977) y presentan caracteres morfo-fisiológicos opuestos a las anuales: baja área foliar específica (SLA-del inglés specific leaf area) y asimilación de CO₂, baja tasa de crecimiento relativa (RGR- RGR del inglés relative growth rate), alta asignación a órganos de perpetuación y almacenamiento (raíz y roseta, Chiarello y Roughgarden 1984, McPherson y Williams 1998) y alta eficiencia en el uso del agua (Chapin 1980). En su conjunto estos caracteres otorgan a las especies perennes integridad fisiológica y longevidad foliar.

Debido a esta estrategia es que se ha propuesto el uso de especies perennes como una de las formas de mejorar la estabilidad del rendimiento de los cultivos. Las especies perennes tienen menor sensibilidad del rendimiento (producción de semillas) ante cambios en la disponibilidad ambiental (Bell et al. 2008). Sin embargo, las adaptaciones asociadas a la perennidad, que resultan en un mejor ajuste al ambiente, implican usos alternativos de los recursos adquiridos por la planta, que podrían ser utilizados para un mayor crecimiento o una mayor producción de semilla.

Así, los cultivos perennes tienen, en general, menores rendimientos que sus equivalentes anuales (Pimm 1997, Denison 2009). A pesar de la limitación debida al bajo rendimiento potencial, algunos autores sugieren que el compromiso entre atributos asociados con la perennidad y la producción de semillas no necesariamente es fijo (Piper y Kulakow 1995, DeHaan et al. 2005). En este contexto podría ser posible incrementar el rendimiento en cultivos perennes, si al criterio de maximización del rendimiento potencial se le adicionan criterios secundarios, conformados por atributos determinantes de la estabilidad y tolerancia a las condiciones ambientales extremas (Moffat 1996, Pimm 1997, Piper y Kulakow 1995). Lograr este objetivo requiere como paso previo identificar este conjunto de caracteres y su asociación con el rendimiento y con la perennidad. Este capítulo explora estas ideas generales.

Entre los caracteres que modulan la expresión de la perennidad están aquellos que resultan en la asignación de recursos a órganos reproductivos en detrimento de los órganos vegetativos (Horvitz y Schemske 1988, Reekie y Bazzaz 1992). Para entender diferencias en las estrategias de vida de anuales y perennes algunos autores han estudiado la economía de los hidratos de carbono (Sakamaki y Ino 2004, Meyer y Hellwing 1997). La dinámica de los carbohidratos no estructurales también es un importante regulador de ajustes fisiológicos de las plantas a la sequía y al estrés por frío (Larcher y Thomaser-Thin 1998, Meletiou-Christou et al. 1992, Rizopoulou et al. 1989), aunque plantas viviendo bajo condiciones ambientales similares pueden mostrar diferente dinámica de almacenamiento y uso de hidratos de

carbono, según su forma de vida (Barbaroux y Bréda 2002, Monney et al. 1992, Newell et al. 2002).

La naturaleza del ciclo de vida tiene un impacto dramático sobre la partición de carbohidratos en toda la planta (Thompson y Stewart 1981). En anuales monocárpicas (como la mayoría de los cereales) con un sólo cambio antes de producir descendencia (offspring), debido a que el ciclo de vida termina, las reservas amortiguan periodos de baja radiación o sequía, permitiendo a las plantas producir semillas viables. Las especies perennes en cambio dan un paso más, almacenan hidratos de carbono no estructurales en sus raíces y tallos, para el re-crecimiento de nuevos tejidos luego de períodos de dormancia por frío o falta de agua en el suelo (Matsuoka y Garcia 2011). En la mayoría de las plantas perennes las reservas tienen un máximo al final del crecimiento vegetativo, y son usadas durante la floración y la producción de semilla (Komor 2000, Rae et al. 2005). En términos generales, puede decirse que son los agrónomos trabajando sobre especies ya domesticadas los que han avanzado más en la comprensión de los controles sobre la asignación de fotoasimilados. Comparativamente, las especies silvestres o con mínima domesticación, como las utilizadas en este estudio, han sido menos estudiadas.

El balance de los hidratos de carbono de reservas, y de carbono en general, es el resultado de interacciones fuente-destino, las cuales son moderadas por un número de factores dentro de los cuales se incluyen: la capacidad buffer de los órganos de almacenamiento, la capacidad de los destinos reproductivos y el control hormonal y nutricional (Patrick 1988, Wardlaw 1990). Hay numerosos indicadores de la asociación entre fuentes y destinos reproductivos. Esta asociación puede ser interpretada de varias formas, dentro de las cuales están: (1) una relación directa causal, dada por una alta tasa de fotosíntesis que lleva a un mayor rendimiento, (2) una gran capacidad de los destinos que puede incrementar la tasa de fotosíntesis, (3) un incremento en la capacidad de almacenamiento, la cual puede mantener constante el suministro de fotoasimilados a los destinos durante períodos de estrés (Buttery y Buzzell 1998, Bindinger et al. 1977, Palta et al. 1994, Blum 1998). Como evidencia para el primer escenario se han reportado relaciones lineales para la tasa de crecimiento del cultivo (suministro de asimilados) y el número de semillas (Egli y Zhen-wen 1991). También se sugiere que el aumento en el rendimiento después de remover estructuras reproductivas, puede ser debido a un incremento en la biomasa foliar, lo cual podría sugerir un incremento en la tasa de fotosíntesis (Noquet et al. 2004, Rood y Major 1984, Kumidini 2002).

Contrariamente a la idea de una relación directa entre el suministro de asimilados y los componentes del rendimiento, Egli y Leggett (1976) han sugerido que el almacenamiento de hidratos de carbono sirve como buffer entre el crecimiento de la semilla y la producción de fotosintatos. Las reservas almacenadas pueden ser capaces de mitigar algunas de las pérdidas potenciales debido a una disminución en la tasa de fotosíntesis, no acoplada a la demanda en el suministro de asimilados (Fu et al. 2011).

La magnitud de la movilización de hidratos de carbono no estructurales durante el llenado de grano y la contribución de estas reservas al rendimiento depende de las relaciones fuente-destino de cada especie, la cual a su vez está fuertemente influenciada por las condiciones del ambiente (Sadras et al. 1993). Además, estas asociaciones involucradas en la variación de la disponibilidad de fotoasimilados no son estáticas y pueden cambiar a lo largo del período de desarrollo del cultivo (Cárcova et al. 2004). Por ejemplo, una reducción del suministro de fotoasimilados en pre-antesis reduce el carbono almacenado durante esta etapa (Gallagher et al. 1975, Snyder et al. 1993), el crecimiento y la expansión del área foliar

(Kumudini 2002) y modifica la composición química de la hoja (nitrógeno y contenido de clorofila). Todos estos cambios pueden reducir la capacidad fotosintética de la planta (Ashraf y Bashir 2003) y así, el rendimiento final.

La influencia del ciclo de vida en la relación fuente-destino es clave para entender el costo de la reproducción en especies anuales y perennes silvestres (Obeso y Grubb 1994). En este contexto, se necesita dilucidar la regulación de las reservas carbonadas y su efecto en la productividad (de biomasa y semillas) y la estabilidad de la producción ante condiciones cambiantes de recursos. El entendimiento de estos mecanismos es central para generar criterios de selección y estrategias de desarrollo de nuevos cultivos para zonas áridas.

El género *Physaria* (Brassicaceae), con aproximadamente 100 especies nativas de zonas áridas y semiáridas de América que difieren en el ciclo de vida (anual, bianual, y perenne, Rollins y Shaw 1973), representa un sistema de utilidad para estudios comparativos de especies con diferentes ciclos de vida. Su relación filogenética con otras *Brassicaceas* cultivadas como colza aumenta la utilidad de este sistema de estudio. Entre las especies disponibles se han evaluado por su potencial agronómico *P. fendleri*, *P. gracilis* y *P. angustifolia* (anuales) y *P. mendocina* y *P. pinetorum* (perennes), entre otras (Dierig et al. 1993, Ploschuk et al. 2005, Windauer et al. 2005, González-Paleo y Ravetta 2011 a y b).

En una primera aproximación al problema comparando una especie anual y una perenne, se encontró que aun cuando los órganos vegetativos son destinos más prioritarios en la perenne *P. mendocina* que en la anual *P. fendleri*, esto no representa desventajas en el rendimiento de la primera (Ploschuk et al. 2005). En experimentos posteriores González-Paleo y Ravetta (2011 a) compararon *P. mendocina* con *P. gracilis* y evaluaron caracteres asociados al crecimiento: área foliar específica (SLA- del inglés specific leaf area), índice de área foliar (LAR- del inglés leaf area ratio), tasa de asimilación (A), asignación a semilla (IC) y la concentración total de hidratos de carbono no estructurales (TNC %, del inglés total non-structural carbohydrates). En particular, en estos experimentos *Physaria gracilis* mostró una estrategia adquisitiva típica de una especie anual: gran producción de semilla, alto índice de cosecha y gran área foliar específica. *Physaria mendocina* presentó una estrategia conservativa típica de una especie perenne: baja producción de semillas e índice de cosecha, alta asignación a raíces y almacenamiento y baja área foliar específica-SLA. Por otra parte, *P. pinetorum* y *P. angustifolia* mostraron un perfil de atributos intermedio entre la estrategia típica perenne y la estrategia típica anual.

Por ejemplo en *P. pinetorum* esta estrategia se caracterizó por poseer algunos atributos típicos del síndrome de perennidad (baja SLA), mientras otros caracteres, como la asignación a raíces, el almacenamiento y la asignación a semilla (ER) mostraron valores cercanos al de las especies co-genéricas de ciclo anual. González-Paleo y Ravetta (2011) definieron, entonces, un gradiente en las estrategias de asignación, en el cual las estrategias asociadas a la anualidad y a la perennidad representan extremos. Las diferencias en el patrón de asignación de especies de igual ciclo de vida revelan que los patrones de asignación comparativos de anuales y perennes no pueden ser resumidos en respuestas universales. Este resultado apoya la hipótesis propuesta por DeHaan et al. (2005) que propone que el compromiso entre rendimiento y perennidad no es fijo. Además, indica que este grupo de especies de *Physaria*, de distinto hábito de vida, constituye un sistema ideal para estudios comparativos del costo que representan las distintas estrategias de reproducción (semélpara versus iterópara) sobre la asignación a funciones relacionadas con la supervivencia (sensu Hautekeete et al. 2001).

Además de mejorar nuestra comprensión de las consecuencias para el cultivo de los factores que regulan el ciclo de vida, el estudio comparativo de anuales y perennes permitiría elaborar nuevos criterios para la elección de nuevos cultivos potenciales y la selección de germoplasma adecuados a diferentes condiciones ambientales, así como el diseño de tecnología agronómica a través de la manipulación de la relación entre rendimiento y longevidad en especies perennes.

El objetivo del presente capítulo es evaluar el efecto de la disponibilidad de fotoasimilados sobre las estrategias de adquisición y partición de carbono en especies anuales y perennes de *Physaria*. Se espera que la disponibilidad de fotoasimilados determine diferencias dependientes del ciclo de vida en las estrategias de adquisición y partición de carbono (Hipótesis I). Se predice que:

Predicción 1.1: Las especies anuales modificarán su estrategia dependiendo de la disponibilidad de fotoasimilados. Así, con alta disponibilidad tendrán una estrategia adquisitiva: gran asignación a estructuras de crecimiento y reproducción, alto índice de área foliar y área foliar específica. El cambio en estos atributos se traducirá en un incremento de la biomasa total, la tasa de crecimiento relativa (RGR) y la asignación a reproducción (esfuerzo reproductivo, ER). Por el contrario, con baja disponibilidad de fotoasimilados presentarán una estrategia más conservativa: con baja asignación a biomasa total, baja tasa de crecimiento relativa (RGR) y menor índice de área foliar, lo cual se traducirá en una disminución en la asignación a reproducción (ER).

Predicción 1.2: Las especies perennes, aún con diferencias en la disponibilidad de asimilados (sombreado o eliminación de estructuras reproductivas), mantendrán una estrategia conservativa en el uso de los recursos: una baja asignación a semillas, a expensas de una asignación proporcional preferencial a raíz, biomasa vegetativa e hidratos de carbono de reserva. El comportamiento de los atributos estructurales y funcionales resultará en una producción de biomasa y asignación a reproducción (ER) estable a lo largo de un gradiente en la disponibilidad de carbono.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 General

Para poner a prueba la Hipótesis 1 y las Predicciones 1.1 y 1.2, se realizaron dos experimentos en condiciones de campo; uno durante el período 2008-2009 (Experimento 1), que se repitió en la estación de crecimiento 2009-2010 (Experimento 2) en Gaiman-Chubut, Argentina. En cada uno de estos experimentos se incluyeron a las 4 especies del género *Physaria* (syn *Lesquerella*, Brassicaceae): dos de ciclo anual: *P. angustifolia* y *P. gracilis* y dos perennes: *P. pinetorum* y *P. mendocina*. A las cuatro especies de *Physaria* se les aplicaron cuatro niveles de los tratamientos de disponibilidad de fotoasimilados que fueron generados por: a) sombreado, durante las etapas de pre y post-antesis y, b) remoción de botones florales y c) control, plantas intactas sin ningún tratamiento (Capítulo 1). Así, en cada uno de los años se trabajó con un total de 16 tratamientos (4 especies × 4 tratamientos de relación fuente-destino)

Cada tratamiento fue aplicado a 5 parcelas (repeticiones). Cada parcela tuvo un total de 10 plantas, dispuestas con una distancia entre plantas de 0,17 m y 0,4 m entre hileras. Durante el curso del experimento se regó con una frecuencia de 20 días durante la etapa reproductiva, ya que es crítico para la determinación del rendimiento, al menos para otras especies del género (*P. flendleri*, Puppala 2004), y coincide con la estación seca en el área de estudio. Las malezas fueron removidas manualmente para evitar la competencia

Análisis de crecimiento: Patrones de partición y atributos morfológicos

El análisis de crecimiento para las cuatro especies de *Physaria*, las cuales difieren en su ciclo de vida (anuales y perennes), se realizó principalmente utilizando la biomasa total acumulada, la tasa de crecimiento relativa (RGR del inglés relative growth rate) y, la tasa de asimilación neta (NAR del inglés net assimilation rate). La asignación de biomasa se utilizó por ser un concepto central en la teoría de historia de vida (Stearns 1992) y también de importancia en la determinación del rendimiento de los cultivos (Slafer et al. 2005). La RGR fue utilizada debido a que permite comparar de forma conveniente la performance de especies que difieren ampliamente en la historia de vida (Hunt y Lloyd 1987). Mientras que la tasa de asimilación neta (NAR), es un componente muy importante que determina diferencias en la RGR en plantas de climas fríos (Medek et al. 2007, Loveys et al. 2002) y en ambientes con alta radiación (Poorter y Van der Werf 1998, Shipley 2002).

De este modo se realizaron dos cosechas: 1) a pre-antesis (medida en floración) y 2) post-antesis (medida en estadio fenológico de fructificación). Se cosecharon dos plantas por cada repetición (para un total de 10 plantas por tratamiento). En cada una de las cosechas la biomasa de las plantas se dividió entre órganos: raíces, tallos, hojas y órganos reproductivos. Se determinó el área foliar total por planta utilizando UTHSCSA Image Tool for Windows, versión 2.02. Después de escanear las hojas, fueron secadas a 70°C durante 48 h y pesadas. Se estimó la proporción de la biomasa total destinada a cada órgano: hojas (LMR leaf mass ratio o relación de biomasa de hojas, g hoja x g de biomasa total⁻¹), raíces (RMR root mass ratio o relación de biomasa de raíz, g de raíz x g de biomasa total⁻¹), tallos (SMR stem mass ratio o relación de biomasa de tallo x g de biomasa total⁻¹). Los datos de base fueron utilizados para calcular el área foliar específica (SLA, specific leaf area, relación entre el área foliar y la biomasa foliar), y la relación de área foliar (LAR, leaf area ratio, relación entre el área foliar y la biomasa total).

La tasa de crecimiento relativa (RGR) y la tasa de asimilación neta (NAR) se calcularon para cada especie de acuerdo a Hunt et al. (2002) y Hoffmann y Poorter (2002, Ec. 1 y 2) para los distintos periodos evaluados: período I-desde roseta a botón floral, período

II- desde botón floral a floración, y período III- desde floración a fructificación. La RGR_{total} se calculó para el período desde roseta hasta fructificación plena. No se estimó RGR post-fructificación, para evitar el efecto de la senescencia foliar durante la madurez fisiológica

$$RGR \text{ (mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}) = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

$$NAR \text{ (mg cm}^{-2} \text{ día}^{-1}) = ((B_2 - B_1) * (\ln LA_2 - \ln LA_1)) / (t_2 - t_1) * (LA_2 - LA_1) \quad (2)$$

Donde 2 y 1 se refieren a dos cosechas consecutivas, B es la biomasa total, LA es el área foliar total por planta y t es el tiempo.

Se determinó la concentración y el contenido de hidratos de carbono no estructurales presentes en las raíces (TNC %, TNCg), es decir aquellos que no están implicados en la formación de estructura y constituyen los elementos de reserva (azúcares, almidón y algunos glucósidos), utilizando el método espectrofotométrico de la antrona (Yemm y Willis 1954). Para la determinar la concentración de hidratos de carbono no estructurales (TNC %) la biomasa de raíz (250 mg) fue procesada con 70 ml de 10% (v/v) de ácido clorhídrico a 100°C por 1 hora. El contenido total de carbohidratos no estructurales (TNC g) fue calculado como la concentración de TNC en raíces multiplicada por la biomasa de raíz (Kobe et al. 2010).

Se calculó el esfuerzo reproductivo (ER), como los gramos de biomasa asignada a estructuras reproductivas (tallos reproductivos, semillas y silículas) en función de los gramos de biomasa total (biomasa aérea y raíces; Reekie y Bazzaz 1987).

Asimilación de CO₂

La tasa de asimilación de CO₂ ($\mu\text{moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) fue medida en una hoja completamente expandida y sin signos de deterioro, en 18 plantas por especie para cada tratamiento de disponibilidad de irradiancia (100 % y 65 % de la disponibilidad de PPFD). Las mediciones se realizaron entre las 12:00 y 14:00 hs, en los estados fenológicos de elongación-floración (pre-antesis, 14 de septiembre-4 de Octubre de 2012), y floración-fructificación (post-antesis 12 de octubre-22 de noviembre), utilizando un analizador de gases infrarrojo portátil ADC-LCA-4 (Hoddesdon, England).

2.2.2 Análisis estadístico

La comparación de la tasa de crecimiento relativa y de la tasa de asimilación neta entre especies se realizó utilizando el método propuesto por Poorter y Lewis (1986). El método combina las ventajas del análisis de crecimiento funcional y del análisis clásico. Se basa en el análisis de varianza de dos factores: Tiempo y Tratamiento, utilizando como variable dependiente el logaritmo natural de la biomasa total o el área foliar para RGR y NAR, respectivamente. Este análisis se realizó para cada especie evaluada. Las diferencias entre especies para un intervalo entre dos cosechas son puestas a prueba a través de la interacción entre Tiempo y Especie.

Los atributos morfológicos y fisiológicos fueron analizados utilizando un análisis de Varianza de parcelas sub-divididas de tres factores fijos: Parcela principal: sombreado, 3 niveles, sub-parcelas: especies, 4 niveles y sub-subparcelas: corte, 2 niveles. Cuando se detectó interacción significativa parcela principal*sub-parcela, se dividió por especie. Cuando se detectó interacción sub-parcela*sub-subparcela se realizó un análisis unifactorial con un test de Tukey para detectar diferencias significativas entre los tratamientos. Se comprobó la distribución normal y la homogeneidad de las varianzas de las sub-poblaciones.

2.3 Resultados

Efecto de los tratamientos.

Como consecuencia de los tratamientos de disponibilidad de radiación (100% y 65%, de la disponibilidad de PPFD), aplicados en períodos de pre y post-antesis, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la asimilación (A) de CO_2 en las cuatro especies de *Physaria*. La asimilación disminuyó por efecto del sombreado en ambos períodos, en todas las especies (Figura 2.1).

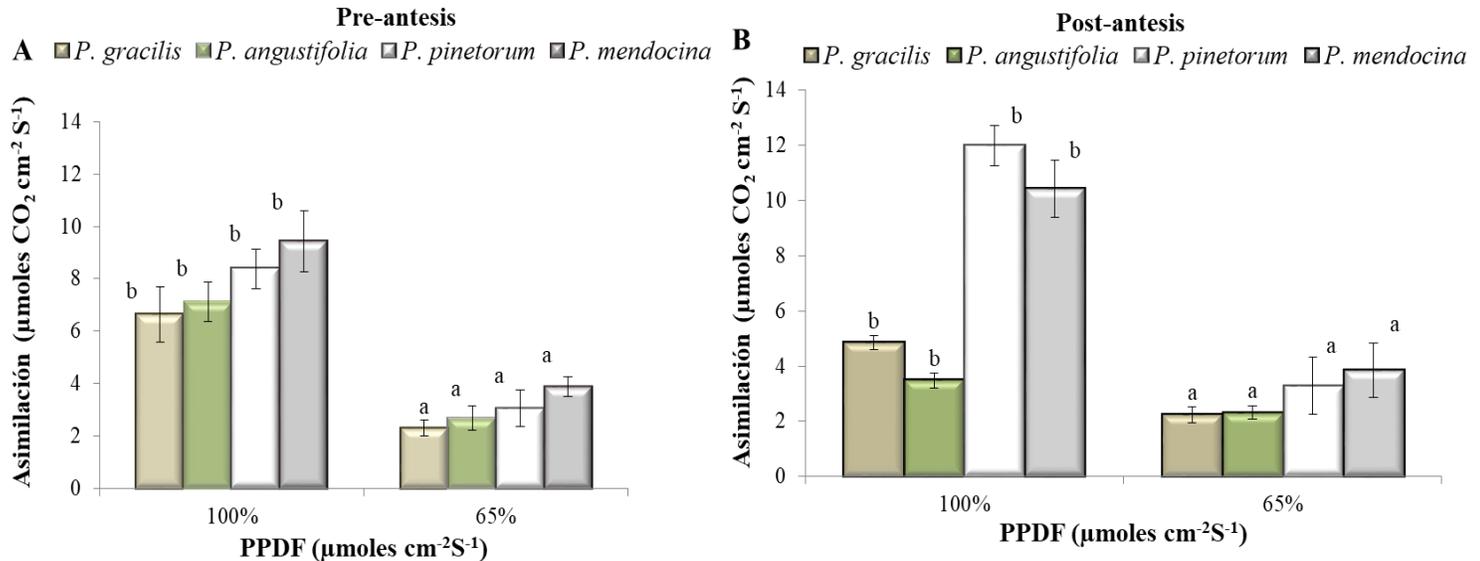


Figura 2.1: Efecto de la disponibilidad de radiación durante los periodos vegetativo (pre-antesis, A) y reproductivo (post-antesis, B), en la asimilación de CO_2 . Tratamientos de 100 % de la radiación incidente (control), y 65% de la radiación incidente. Las barras verticales muestran el error estándar y letras distintas diferencias significativas, utilizando test de anova de dos factores.

2.3.1 Tasa de crecimiento relativo (RGR) y biomasa total acumulada.

Los tratamientos de variación en la disponibilidad de asimilados (remoción y sombreado) resultaron en cambios en el patrón de crecimiento tanto de las especies anuales como de las perennes de *Physaria*.

A. Tasa de crecimiento relativa: RGR

Período de pre-antesis

Los tratamientos de variación fuente-destino provocaron cambios en la tasa de crecimiento relativo (RGR) pre-antesis, los cuales no estuvieron relacionados con el ciclo de vida. Así, el sombreado vegetativo (SV) resultó en una disminución de la RGR pre-antesis en relación a las plantas control, en tres de las cuatro especies ($p < 0,05$, Cuadro 2.1, Figura 2.2). La excepción fue la perenne *P. mendocina*, para la cual no se encontraron diferencias entre tratamientos.

La remoción de botones florales (R) aumentó la RGR pre - antesis sólo para *P. gracilis* y *P. pinetorum*. No se encontraron cambios en la RGR pre - antesis de otras dos especies (*P. angustifolia* y *P. mendocina*, Cuadro 2.1, Figura 2.2).

Periodo de post - antesis

El sombreado durante la etapa vegetativa (SV) provocó una menor RGR post - antesis en relación a la RGR de plantas control, en todas las especies. (Cuadro 2.1). El sombreado durante la etapa reproductiva (SR) afectó sólo la RGR de *P. pinetorum*.

Las especies anuales *P. angustifolia*, *P. gracilis* y la perenne *P. pinetorum* mostraron un aumento en la RGR post - antesis con la remoción de yemas florales. No se observó efecto de la remoción de yemas (R) en la RGR de la perenne *P. mendocina* (Cuadro 2.1, Figura 2.2).

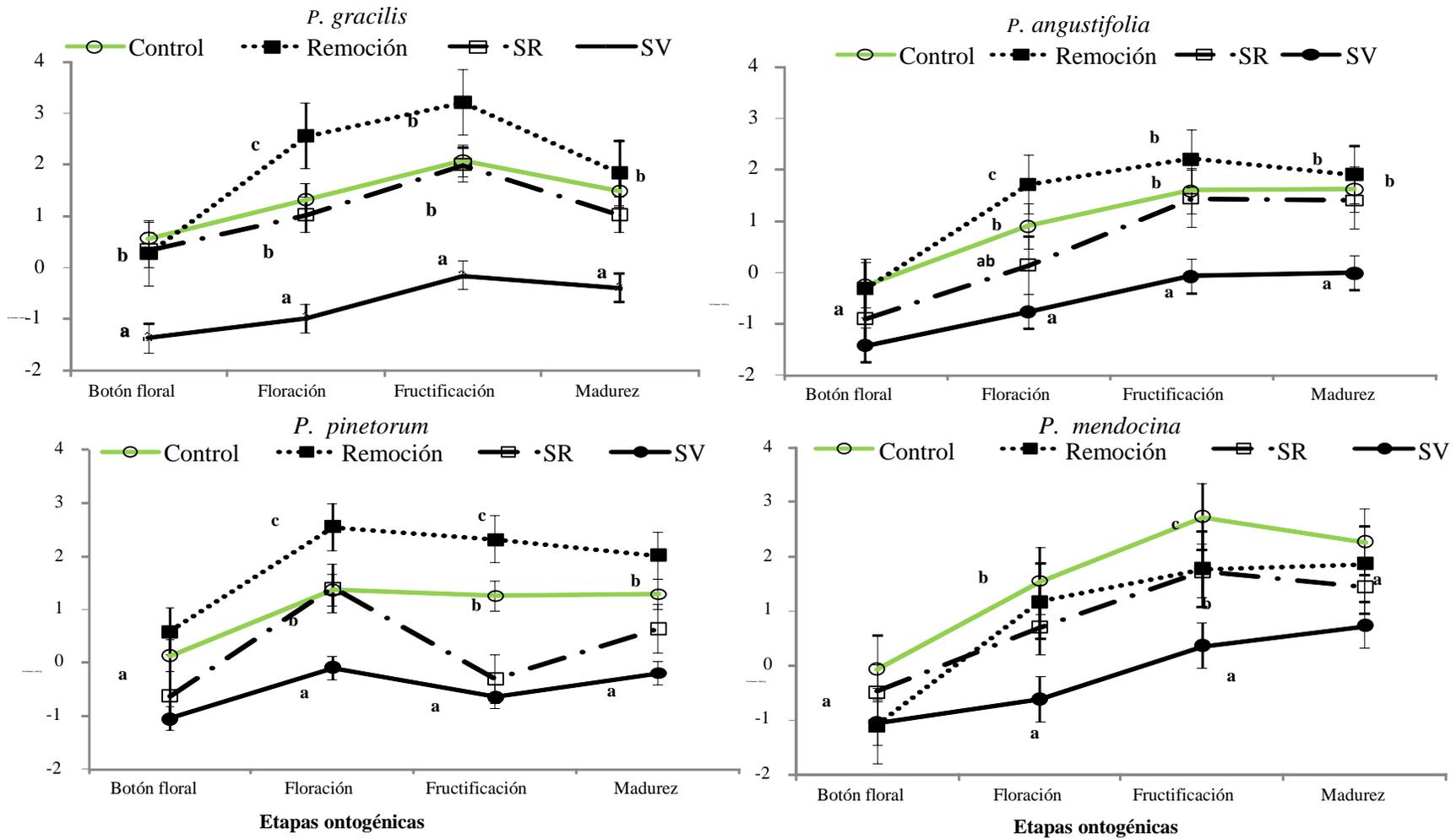


Figura 2.2: Biomasa para cuatro especies de *Physaria* evaluadas según la ontogenia (Botón floral, Floración, Fructificación y Madurez) Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de disponibilidad de fotoasimilados para cada especie por separado, debido a que la interacción tratamiento * especie fue significativa para los cuatro estadios fenológicos evaluados ($p < 0,001$).

Cuadro 2.1: Efecto de los tratamientos de variación de fuente - destino sobre la tasa de crecimiento relativa (RGR, $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) pre-antesis (botón floral-floración) y post- antesis (floración -fructificación) en cuatro especies de *Physaria*. SV: sombreado vegetativo, SR: sombreado reproductivo (ambos representan una baja disponibilidad de fotoasimilados), R: remoción de yemas florales (representa una alta disponibilidad de fotoasimilados) y C: control. Los valores representan las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de la disponibilidad de fotoasimilados fue analizada para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

	Tratamiento	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
RGR Pre- antesis	SV	11,59 \pm 2,4 a	19,44 \pm 5,3 a	17,37 \pm 2,2 a	20,40 \pm 4,08 a
	C	48,54 \pm 8,1 b	47,55 \pm 10,6 b	39,67 \pm 6,2 b	20,37 \pm 3,06 a
	R	62,18 \pm 9,2 c	37,36 \pm 7,1 b	65,55 \pm 10,1 c	24,15 \pm 6,68 a
RGR Post- antesis	SV	17,44 \pm 5,12 a	19,45 \pm 7,6 a	13,01 \pm 2,89 a	8,13 \pm 5,01 a
	SR	29,46 \pm 8,2 b	28,84 \pm 12,07 ab	14,92 \pm 9,02 a	17,52 \pm 5,9 b
	C	33,43 \pm 5,8 b	31,79 \pm 13,76 b	36,49 \pm 10,07 b	20,23 \pm 10,48 b
	R	49,69 \pm 10,2 c	56,64 \pm 19,88 c	78,56 \pm 16,81 c	17,98 \pm 7,09 b

B. Biomasa

Período pre-antesis:

Los tratamientos de modificación de la relación fuente/destino provocaron cambios en la producción de biomasa en el período pre-antesis. Sin embargo, las distintas especies tuvieron respuestas diferentes (interacción especie*tratamiento significativa, $p > 0,0001$). Estas respuestas, no estuvieron determinadas por el ciclo de vida (anuales vs. perennes). El sombreado en período vegetativo provocó una disminución en la biomasa pre-antesis tanto en las especies anuales como en las perennes. Sin embargo, el tratamiento de remoción de yemas florales (R) provocó efectos distintos entre especies: mientras que en *P. gracilis* y *P. pinetorum* la biomasa aumentó en relación al control, en el resto de las especies no se observaron cambios (Cuadro 2.2).

Período post-antesis:

Al igual que en el período de pre - antesis, el sombreado vegetativo (SV) provocó una disminución de la biomasa post-antesis, para todas las especies evaluadas. El sombreado reproductivo (SR), en cambio, tuvo efecto sólo en la perenne *P. pinetorum*, la cual presentó menor biomasa en relación al tratamiento control (Cuadro 2.2). El tratamiento de remoción de yemas florales, sólo generó un aumento de la biomasa de *P. gracilis* y *P. pinetorum*

Cuadro 2.2: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre la acumulación de biomasa (g/planta) pre-antesis (desde la aparición de los botones florales hasta la floración) y post-antesis (desde la floración hasta madurez fisiológica) en cuatro especies de *Physaria*. SV: sombreado vegetativo, SR: sombreado reproductivo (SV y SR representan una baja disponibilidad de fotoasimilados), R: remoción de yemas florales (representa una alta disponibilidad de fotoasimilados), y C: control. Los valores son las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de la disponibilidad de fotoasimilados fue analizada para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

	Tratamiento	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
Biomasa (g) pre-antesis	SV	0,43 \pm 0,05 a	0,48 \pm 0,04 a	0,52 \pm 0,01 a	1,06 \pm 0,08 a
	C	1,76 \pm 0,19 b	1,4 \pm 0,12 b	3,51 \pm 0,14 b	4,74 \pm 0,16 d
	R	2,53 \pm 0,2 c	1,6 \pm 0,13 b	4,19 \pm 0,12 c	3,82 \pm 0,20 b
Biomasa (g) post-antesis	SV	0,91 \pm 0,09 a	0,96 \pm 0,08 a	0,96 \pm 0,11 a	1,36 \pm 0,16 a
	SR	4,02 \pm 0,28 b	4,19 \pm 0,17 b	1,98 \pm 0,21 a	4,88 \pm 0,18 b
	C	4,43 \pm 0,22 b	5,1 \pm 0,36 b	3,75 \pm 0,35 b	6,23 \pm 0,41 b
	R	6,29 \pm 0,32 c	5,22 \pm 0,31 b	6,93 \pm 0,47 c	5,62 \pm 0,45 b

2.3.2. Atributos morfo-fisiológicos y estrategias de partición de carbono.

A- Pre - antesis

Los cambios en la tasa de crecimiento relativa (RGR) pre-antesis y la producción de biomasa que resultaron de los tratamientos de variación de la disponibilidad de fotoasimilados, estuvieron acompañados con cambios en algunos atributos morfo-fisiológicos.

La disminución en el crecimiento (menor RGR y biomasa) provocada por el sombreado vegetativo (SV) estuvo acompañada de un incremento en el área foliar específica (SLA) y de la relación de área foliar (LAR, $p < 0,05$) para todas las especies (Cuadro 2.3). El efecto compensatorio frente al sombreado vegetativo (aumento del LAR y el SLA), no se encontró en la tasa de asimilación neta (NAR), que disminuyó en todas las especies (Cuadro 2.3), así el NAR siguió la misma tendencia que la asimilación de CO₂ (A, Figura 2.1)

Para *P. gracilis* y *P. pinetorum* la asignación proporcional a raíces (RMR) fue mayor ($p < 0,05$) a expensas de una disminución del esfuerzo reproductivo (ER) con SV. Por otro lado, para *P. angustifolia* y *P. mendocina* el sombreado vegetativo no tuvo efecto en la RMR ni el ER (Cuadro 2.3). En ninguna de las especies el SV produjo cambios en la asignación proporcional a hojas (LMR, Cuadro 2.3).

Por su parte el tratamiento de remoción de yemas (R) provocó efectos distintos entre las especies evaluadas. En la anual *P. gracilis* y en la perenne *P. pinetorum*, se encontró un aumento, en algunos, de los atributos foliares (LAR, SLA y LMR), los cuales estuvieron acompañados de un aumento en la tasa de asimilación neta (NAR, $p < 0,05$) con un incremento en el ER ($p < 0,05$ Cuadro 2.3). Este cambio en los atributos foliares no fue igual en ambas especies, así para la anual *P. gracilis* hubo un aumento del SLA ($p < 0,05$) y una disminución en la asignación a hojas (LMR, $p < 0,001$) por lo cual el LAR no se vio modificado. En cambio para la perenne *P. pinetorum* hubo un incremento del LMR ($p < 0,05$) con un aumento en el LAR (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3: Atributos morfológicos evaluados en pre-antesis (medidos en estadio fenológico de floración). Relación de área foliar (LAR), área foliar específica (SLA), asignación proporcional a hojas (LMR), asignación proporcional a raíces (RMR), tasa de asimilación (NAR). Tratamientos: SV: sombreado durante la fase vegetativa, R: remoción de yemas florales y C: control. Los valores representan las medias \pm E.E. Los datos se analizaron para cada especie por separado, ya que la interacción tratamiento*especie fue significativa para todos los atributos evaluados.

	TRATAMIENTO	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
LAR ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	SV	194,31 \pm 31,2 b	155,77 \pm 15,87 b	124,41 \pm 9,99 c	125,11 \pm 10,01b
	C	63,73 \pm 6,53 a	84,08 \pm 10,98 a	37,41 \pm 1,65 a	23,6 \pm 5,22 a
	R	79,5 \pm 9,71 a	65,56 \pm 6,16 a	55,34 \pm 4,46 b	30,03 \pm 2,46 a
SLA ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	SV	390,98 \pm 33,75 c	250,97 \pm 21,17 b	355,27 \pm 22,26 c	244,33 \pm 44,21b
	C	131,96 \pm 11,25 a	98,17 \pm 6,67 a	147,05 \pm 16,04 b	85,12 \pm 3,37 a
	R	254,74 \pm 17,78 b	101,47 \pm 11,97 a	130,76 \pm 7,49 b	93,81 \pm 6,22 a
LMR ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	SV	0,48 \pm 0,14 b	0,60 \pm 0,05 a	0,40 \pm 0,02 a	0,49 \pm 0,03 a
	C	0,44 \pm 0,07 b	0,56 \pm 0,08 a	0,40 \pm 0,02 a	0,50 \pm 0,01 a
	R	0,32 \pm 0,08 a	0,58 \pm 0,14 a	0,46 \pm 0,03 b	0,51 \pm 0,02 a
RMR ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	SV	0,20 \pm 0,01 b	0,12 \pm 0,03 a	0,38 \pm 0,03 c	0,16 \pm 0,02 a
	C	0,1 \pm 0,01 a	0,14 \pm 0,01 a	0,20 \pm 0,06 b	0,20 \pm 0,05 a
	R	0,09 \pm 0,02 a	0,13 \pm 0,01 a	0,11 \pm 0,01 a	0,19 \pm 0,01 b
ER ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	SV	0,31 \pm 0,04 a	0,27 \pm 0,04 a	0,22 \pm 0,03 a	0,35 \pm 0,09 a
	C	0,46 \pm 0,05 b	0,3 \pm 0,04 a	0,38 \pm 0,06 b	0,29 \pm 0,03 b
	R	0,52 \pm 0,02 c	0,29 \pm 0,06 a	0,43 \pm 0,04 c	0,19 \pm 0,01 b
NAR ($\text{mg cm}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$)	SV	0,23 \pm 0,07 a	0,17 \pm 0,02 a	0,15 \pm 0,032 a	0,82 \pm 0,03a
	C	4,32 \pm 1,0 b	1,22 \pm 0,47 b	4,89 \pm 1,6 b	2,2 \pm 0,91 b
	R	7,18 \pm 1,2 c	0,93 \pm 0,13 b	6,2 \pm 1,6 c	2,59 \pm 0,84b

B- Post-antesis

Todas las especies sometidas a sombreado durante la etapa vegetativa, a excepción de *P. mendocina*, mostraron un mayor LAR ($p < 0,05$) en relación al control en post-antesis. En las anuales *P. angustifolia* y *P. gracilis* el aumento del LAR estuvo acompañado por un incremento del SLA, en cambio para la perenne *P. pinetorum* el aumento del LAR se debió a una mayor asignación a hojas (LMR) y no al SLA (Cuadro 2.4).

El efecto del SV sobre la partición post-antesis fue muy distinto entre especies. Las especies anuales y *P. pinetorum* tuvieron una mayor RMR, acompañada por una disminución en el esfuerzo reproductivo (ER). Por su parte *P. mendocina* se mantuvo sin cambios en estos dos atributos. La tasa de asimilación neta (NAR, estimada) post-antesis resultó menor en plantas bajo SV, frente a las plantas C, salvo para *P. pinetorum* (Cuadro 2.4). Para la asimilación de CO_2 , este último resultado difiere de lo encontrado anteriormente, donde si bien la asimilación instantánea siguió la misma tendencia que el NAR, no difirió significativamente entre especies (Figura 2.1).

Únicamente en *P. gracilis* y *P. pinetorum* el sombreado reproductivo generó incrementos del SLA y del LAR en relación a las plantas control. El resto de los atributos evaluados (LMR, RMR y ER) no se vieron afectados en ninguna de las especies, excepto para *P. mendocina* en la que se observó un aumento en la asignación a raíces (RMR, Cuadro 2.4).

La remoción de yemas florales (R) provocó en *P. angustifolia* y *P. pinetorum* una disminución del SLA, sin embargo, esta respuesta no modificó la LAR, que permaneció sin cambios respecto de las plantas control. Únicamente para la especie anual la disminución del SLA estuvo acompañada por un incremento en la asignación proporcional a hojas (LMR). Para *P. gracilis* el tratamiento de R produjo un aumento del ER y en conjunto con *P. pinetorum* en el NAR (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4: Atributos morfológicos evaluados en post-antesis (medidos en estadio de fructificación). Relación de área foliar (LAR), área foliar específica (SLA), asignación proporcional a hojas (LMR), asignación proporcional a raíces (RMR), tasa de asimilación (NAR). Tratamientos: SV: sombreado durante la fase vegetativa, SR: sombreado reproductivo, R: remoción de yemas florales y C: control. Los valores representan las medias \pm E.E. Los datos se analizaron para cada especie por separado, ya que la interacción tratamiento*especie fue significativa para todos los atributos evaluados.

	TRATAMIENTO	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
LAR (cm ² *g ⁻¹)	SV	153,13 \pm 49,55 b	72,48 \pm 17,89 b	49,1 \pm 8,32 b	32,73 \pm 5,34 a
	SR	155,86 \pm 13,78 b	37,25 \pm 6,1 a	38,31 \pm 3,36 b	24,06 \pm 2,39 a
	C	47,4 \pm 12,5 a	30,08 \pm 6,02 a	25, 21 \pm 4,4 a	32,3 \pm 10,65 a
	R	37,97 \pm 10 a	32,10 \pm 4,14 a	22, 82 \pm 7,3 a	27,62 \pm 6,83 a
SLA (cm ² *g ⁻¹)	SV	180,11 \pm 31,04 b	186,81 \pm 31,63 c	115,75 \pm 13,28 b	62,33 \pm 19,26 a
	SR	184,1 \pm 15,45 b	122,52 \pm 18,66 b	173,42 \pm 28 c	53,8 \pm 8,7 a
	C	108,85 \pm 7,17 a	148,97 \pm 17,67 b	119,85 \pm 15,94 b	67,52 \pm 3,01 a
	R	133,26 \pm 12,53 ab	71,76 \pm 7,16 a	77,42 \pm 9,31 a	60,04 \pm 13,18 a
LMR (g*g ⁻¹)	SV	0,16 \pm 0,02 a	0,15 \pm 0,02 a	0,3 \pm 0,06 b	0,18 \pm 0,02 a
	SR	0,16 \pm 0,01 a	0,12 \pm 0,02 a	0,12 \pm 0,03 a	0,15 \pm 0,02 a
	C	0,18 \pm 0,02 a	0,14 \pm 0,01 a	0,14 \pm 0,02 a	0,19 \pm 0,01 a
	R	0,15 \pm 0,01 a	0,22 \pm 0,02 b	0,17 \pm 0,02 a	0,16 \pm 0,01 a
RMR (g*g ⁻¹)	SV	0,17 \pm 0,01 c	0,11 \pm 0,02 b	0,22 \pm 0,003 c	0,12 \pm 0,01 a
	SR	0,06 \pm 0,01 b	0,06 \pm 0,01 a	0,1 \pm 0,05 b	0,22 \pm 0,02 c
	C	0,06 \pm 0,005 b	0,03 \pm 0,003 a	0,1 \pm 0,01 b	0,15 \pm 0,01 ab
	R	0,03 \pm 0,003 a	0,05 \pm 0,01 a	0,05 \pm 0,01 a	0,19 \pm 0,01 bc
ER (g*g ⁻¹)	SV	0,67 \pm 0,03 a	0,74 \pm 0,03 ab	0,47 \pm 0,04 a	0,70 \pm 0,02 b
	SR	0,78 \pm 0,01 b	0,82 \pm 0,02 bc	0,78 \pm 0,04 b	0,62 \pm 0,01 a
	C	0,76 \pm 0,02 b	0,83 \pm 0,01 c	0,77 \pm 0,02 b	0,66 \pm 0,01 ab
	R	0,83 \pm 0,01 c	0,72 \pm 0,02 a	0,78 \pm 0,02 b	0,66 \pm 0,01 ab
NAR (mg cm ⁻² *día ⁻¹)	SV	0,21 \pm 0,08 a	0,22 \pm 0,06 a	5,2 \pm 0,2 a	1,53 \pm 0,5 a
	SR	4,56 \pm 0,92 b	4,19 \pm 0,47 b	3,78 \pm 1,3 a	4,08 \pm 0,9 b
	C	5,12 \pm 1,35 b	5,14 \pm 0,21 b	4,14 \pm 0,83 a	3,42 \pm 0,7 b
	R	7,74 \pm 0,95 c	4,11 \pm 0,62 b	8,31 \pm 1,3 b	3,99 \pm 1,05 b

2.3.3 Reservas carbonadas

Contenido porcentual y total de hidratos de carbono no estructurales (TNC) en los periodos de pre y post-antesis.

A- Pre-antesis

El tratamiento de sombreado vegetativo tuvo efectos distintos sobre la concentración y contenido de TNC, en las cuatro especies de *Physaria* (Cuadros 2.5 y 2.6). La concentración de hidratos de carbono (TNC %) se mantuvo estable en las especies anuales y en la perenne *P. pinetorum*, mientras que para *P. mendocina* se vio un incremento en relación a los controles (Cuadro 2.5). En cambio el contenido de hidratos de carbono (TNC g) aumentó en las dos perennes, mientras que para las anuales se vio una disminución en relación a las plantas control (Cuadro 2.6).

B-Post-antesis

Todas las especies sometidas a sombreado durante la etapa vegetativa, a excepción de *P. mendocina*, mostraron un menor porcentaje (TNC %) y contenido total de hidratos de carbono (TNC g) en relación al control (Cuadros 2.5 y 2.6). El sombreado en etapa reproductiva afectó sólo a la concentración de hidratos de carbono (TNC %) en la especie *P. pinetorum* (Cuadro 2.5), mientras que el contenido total TNC (g) no se vio modificado para ninguna especie (Cuadro 2.6). El tratamiento de remoción de yemas florales (R) no tuvo efecto sobre las reservas de ninguna de las especies (Cuadros 2.5 y 2.6).

Cuadro 2.5: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre el contenido porcentual de hidratos de carbono en las raíces (TNC %) en pre-antesis (floración) y post- antesis (floración - fructificación) en cuatro especies de *Physaria*. SV: sombreado en período vegetativo, SR: sombreado en período reproductivo (ambos representan una baja disponibilidad de fotoasimilados), R: remoción de yemas florales (representa una alta disponibilidad de fotoasimilados) y C: control. Los valores representan las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de la disponibilidad de fotoasimilados fue analizada para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

	Tratamiento	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
TNC (%) Pre-antesis	SV	16,27 \pm 0,6 a	14,86 \pm 0,4 a	24,89 \pm 2,51 a	26,4 \pm 5,28 b
	C	14,24 \pm 0,99 a	12,46 \pm 0,55 a	16,85 \pm 0,55 a	18,44 \pm 2 a
	R	20,93 \pm 0,46 a	14,96 \pm 1,59 a	18,05 \pm 1,32 a	15,44 \pm 1,52 a
TNC (%) Post-antesis	SV	3,9 \pm 0,95 a	4,66 \pm 0,96 a	6,32 \pm 0,81 a	14,71 \pm 0,86 a
	SR	8,54 \pm 0,84 b	6,83 \pm 0,69 b	5,78 \pm 0,84 a	10,56 \pm 1,15 a
	C	11,82 \pm 0,79 b	8,59 \pm 0,58 b	15,6 \pm 0,86 b	16,49 \pm 1,38 a
	R	9,14 \pm 1,11 b	8,81 \pm 0,66 b	15,23 \pm 0,61 b	12,22 \pm 1,02 a

Cuadro 2.6: Efecto de los tratamientos de variación de fuente-destino sobre el contenido total de hidratos de carbono (TNC g = TNC %*peso de raíces) en pre-antesis (floración) y post- antesis (fructificación) en cuatro especies de *Physaria*. SV: sombreado vegetativo, SR: sombreado reproductivo (ambos representan una baja disponibilidad de fotoasimilados), R: remoción de yemas florales (representa una alta disponibilidad de fotoasimilados) y C: control. Los valores representan las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de la disponibilidad de fotoasimilados fue analizada para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

	Tratamiento	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
TNC (g) Pre-antesis	SV	4,27 \pm 0,36 a	4,93 \pm 0,66 a	17,5 \pm 2,55 b	18,41 \pm 2,06 b
	C	8,68 \pm 1,24 b	7,89 \pm 1,41 b	11,36 \pm 1,51 a	14,2 \pm 1,76 a
	R	9,45 \pm 1,43 b	10,06 \pm 1,36 b	12,36 \pm 2,23 a	13,87 \pm 1,09 a
TNC (g) Post-antesis	SV	2,49 \pm 0,67 a	3,06 \pm 0,73 a	3,77 \pm 0,46 a	11,74 \pm 1,14 a
	SR	3,51 \pm 0,78 b	7,19 \pm 1,48 b	7,44 \pm 0,86 b	14,66 \pm 1,88 a
	C	5,18 \pm 0,98 b	6,76 \pm 1,13 b	8,92 \pm 1,19 b	9,58 \pm 1,17 a
	R	6,18 \pm 0,68 b	8,09 \pm 1,26 b	9,2 \pm 0,92 b	10,75 \pm 1,13 a

2.4 Discusión

La teoría de adquisición de recursos establece que las diferencias entre especies en la biomasa total y su RGR están determinadas por un conjunto de atributos morfo-fisiológicos (SLA, LMR, RMR, LAR y TNC, NAR y A) que resultan en un mayor crecimiento en condiciones no limitantes de recursos (Poorter 1989). Dentro de esta teoría, que ha tenido más desarrollo en especies silvestres, las especies anuales se caracterizan por tener una mayor RGR y biomasa total con una estrategia asociada a una mayor capacidad de adquisición de carbono, a través del SLA y de cambios en la partición y asignación reproductiva y la disminución en asignación a reservas y raíz (Garnier 1992, Roumet et al. 2005, James 2008). Por el contrario, el ciclo perenne se asocia a una menor RGR y biomasa total y a una estrategia más conservativa en el uso de los recursos, con un incremento en la asignación a raíces y reservas y una disminución en la asignación a hojas y a reproducción (Chapin 1980, Poorter y Garnier 1999). Si bien este es el comportamiento esperado en relación al ciclo de vida, cuando se evalúa como responden las especies con estas dos estrategias opuestas a los cambios en la disponibilidad de recursos, las respuestas no suelen ser tan universales y, en general, se desconocen los mecanismos que permiten tanto a especies anuales como a especies perennes el mantenimiento de la productividad.

En esta tesis se puso a prueba la hipótesis (derivada de la teoría de adquisición de recursos) que predice que las especies anuales modificarán algunos caracteres estructurales y funcionales de manera de mantener una estrategia adquisitiva, cuando la disponibilidad de recursos es alta. Por el contrario, con baja disponibilidad de recursos los cambios en algunos atributos les conferirán una estrategia conservativa del carbono adquirido. Se predijo también que este mismo conjunto de atributos permanecerá estable en las especies perennes, independientemente de la disponibilidad de recursos, con una estrategia conservativa y con estabilidad en la tasa de crecimiento y biomasa producida.

Mi experimento con especies de *Physaria* indicó que para las especies anuales la tasa de crecimiento y biomasa total se comportaron de acuerdo a la predicción planteada (Figura 2.3 A), pero que el conjunto de atributos que definen la estrategia no siempre estuvo de acuerdo con la predicción. Las especies perennes en cambio se diferenciaron en su respuesta. Por un lado, *P. mendocina* mostró una estrategia conservativa manteniendo estable su crecimiento, salvo cuando se aplicó una limitante severa durante la etapa vegetativa (Figura 2.3 B). Por otro lado, *P. pinetorum* tuvo un comportamiento similar al de las especies anuales, es decir una respuesta notable a la variación en la disponibilidad de recursos. Esta respuesta apoya la idea de González-Paleo y Ravetta (2011) que describieron a *P. pinetorum* con un comportamiento intermedio entre el de las anuales y las perennes en sus estrategias en el uso de los recursos (Figura 2.3 B).

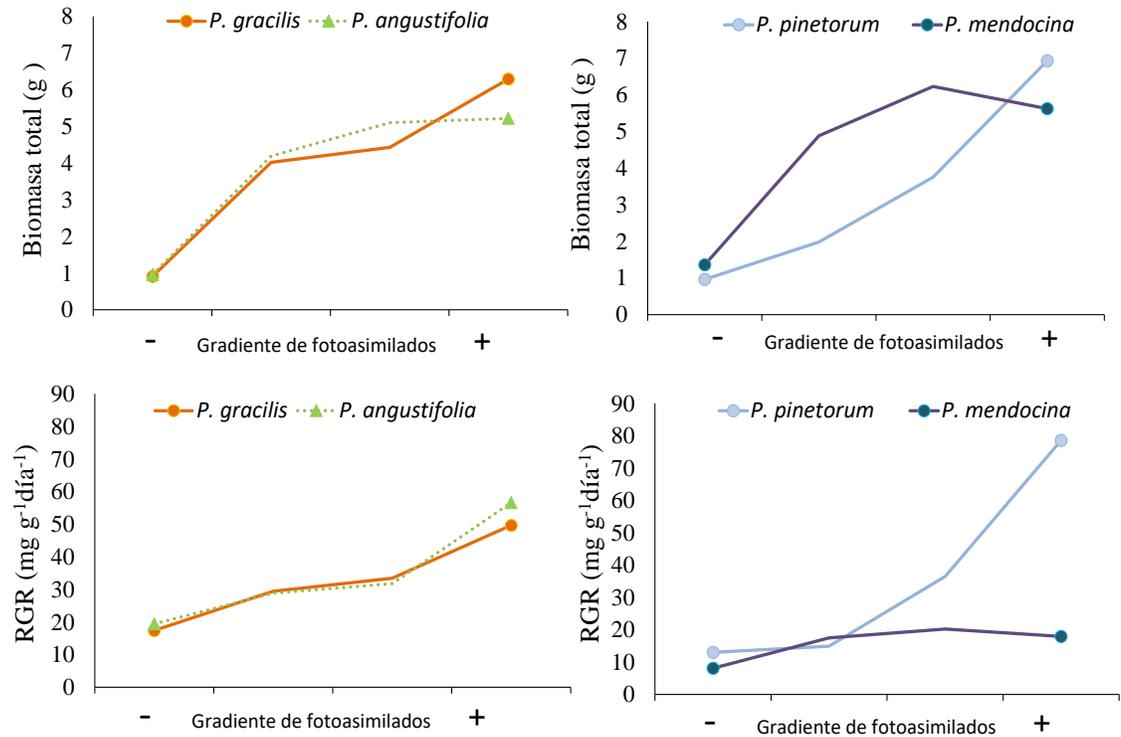


Figura 2.3: Biomasa total y RGR como indicadores del crecimiento de especies A) Anuales y B) Perennes de *Physaria*. Se presentan los resultados promedio para los dos años de estudio debido a que no hubo interacción Especie*Año*Disponibilidad de fotoasimilados. En el eje X los signos - y + hacen referencia a una baja y alta disponibilidad de fotoasimilados, respectivamente. Baja disponibilidad de fotoasimilados involucra los tratamientos de sombreado (SV, SR) y alta el tratamiento de Remoción (R).

En resumen, el conjunto de atributos involucrados en la mayor estabilidad frente a cambios en el ambiente dependió de la disponibilidad de carbono, de la especie (especie-específico) y fue independiente del ciclo de vida. Es decir, el mecanismo funcional que genera un aumento del crecimiento y la biomasa en las especies de *Physaria* fue diferente al modelo planteado por el paradigma vigente.

2.4.1 Baja disponibilidad de fotoasimilados: sombreado pre-antesis.

La baja disponibilidad de carbono, debida al sombreado durante la etapa vegetativa, disminuyó la biomasa total en todas las especies evaluadas. El efecto nocivo del sombreado está bien documentado (Fischer 1975, Fischer y Stockman 1980, 1986, Kemp y Whingwiri 1980, Stockman et al. 1983, Savin y Slafer 1991) y en general se concluye que el crecimiento en los cultivos responde en proporción a la radiación incidente (Fischer 1985). Mi trabajo indica que estas especies silvestres o con mínima domesticación tienen respuestas similares.

La disminución del crecimiento encontrada en las especies de *Physaria* debería haber sido acompañada por una disminución del SLA y del área foliar (Poorter y Remkes 1990), de acuerdo a lo propuesto por la teoría de adquisición de recursos (Poorter 1989). Sin embargo, y a pesar de la disminución de la biomasa promovida por la baja disponibilidad de fotoasimilados, las cuatro especies respondieron de forma similar, con un aumento del área

foliar resultante de un cambio en la morfología foliar (SLA) y no de un cambio en la biomasa total asignada a hojas (LMR).

El área foliar específica (SLA) es un parámetro muy importante para determinar la capacidad de las plantas a un entorno de baja irradiancia (Poorter et al. 2006), y cuando se separa la RGR en sus componentes, existe un acuerdo casi general en el que el área foliar específica (SLA) es el componente morfológico más importante para determinar el crecimiento en plantas herbáceas (Poorter 1989, Poorter y Remkes 1990, Garnier 1992, Lambers y Poorter 1992, Marañón y Grubb 1993, Garnier y Laurent 1994).

El aumento del SLA y del LAR permitiría especular sobre una mayor actividad fotosintética, sin embargo tanto la tasa de asimilación neta (NAR estimada) como la tasa de asimilación de CO₂ instantánea (A_i medida) disminuyeron en todas las especies. Esta respuesta puede explicarse debido a que cuando la intensidad de radiación es baja, la inversión en enzimas fotosintéticas no se maximiza (Lambers et al. 1998) y las diferencias intrínsecas entre especies, respecto a su capacidad fotosintética, no se expresan. Por tanto, en estas condiciones de baja irradiancia cobra mayor importancia relativa la morfología. Es decir, se maximiza el SLA pero existen limitaciones para maximizar la asimilación, al derivarse el nitrógeno foliar hacia la captura de fotones (Evans y Terashima 1988).

Con intensidades de radiación extrema la importancia relativa de la asignación a hojas (LMR) para explicar modificaciones en la RGR es difícil de prever. Por un lado, la intensidad de la luz puede desempeñar un papel en la modificación del equilibrio de parámetros de crecimiento, en el que las variaciones en el LMR son poco relevantes para explicar variaciones en la RGR (Poorter 1989, Shipley 2006). La estabilidad de la proporción de biomasa asignada a hoja encontrada en todas las especies de *Physaria* (salvo para *P. pinetorum*) está de acuerdo con lo encontrado por Poorter (1989) y Shipley (2006) para especies herbáceas silvestres. Por otro lado, hay estudios que muestran que el LMR puede ser tan importante como el SLA para determinar la RGR a bajas y altas intensidades de luz (Poorter y Van der Werf 1998). En mi trabajo el cambio en el LMR se observó sólo para *P. pinetorum* una vez retirado el sombreado vegetativo. Así cuando esta especie estuvo sometida a estrés por luz en pre-antesis, en la siguiente etapa (post-antesis), respondió con un incremento en la asignación a hoja (LMR). En general este tipo de respuesta es esperada para una especie perenne para la cual el recurso limitante no es la luz (Poorter et al. 2009). Las diferencias se relacionan a la morfología foliar de las plantas. En general el aumento del LMR con un incremento de la irradiancia se asocia al aumento la densidad de la hoja debido a una mayor fracción de parénquima de empalizada con células más apretadas y con más alta concentración de TNC (Hanson 1917, Onoda et al. 2008, Niinemets et al. 1998).

Los hidratos de carbono no estructurales almacenados en la raíz (TNC) durante la etapa vegetativa, mostraron una respuesta directamente vinculada al ciclo de vida. El sombreado vegetativo aumentó el contenido de TNC en las especies perennes mientras que en las anuales las reservas, no cambiaron. Es importante el carbono almacenado en distintas etapas del crecimiento como una importante fuente de carbohidratos para el llenado de las semillas (Richards 1996, Borrás et al. 2004), considerando que la asimilación actual no siempre es estable ya que depende de la intercepción de la radiación por el área foliar verde. En general la asimilación actual disminuye durante el llenado de las semillas debido a la senescencia de las hojas, aun cuando la demanda de carbono es muy alta para las semillas en crecimiento. Por este hecho la importancia de la removilización de reservas, la cual a su vez depende de la relación fuente-destino y de la especie (Sadras et al. 1993). Por otro lado, se ha sido enfatizado en la literatura el rol de las reservas presentes en los tejidos antes de la

floración como amortiguadores de los cambios en el rendimiento ante condiciones adversas o en regiones donde el ambiente es poco predecible (Blum et al. 1994, Yang et al. 2000, Slewinski 2011, Shiferaw et al. 2011).

En las especies anuales, la acumulación de reservas es una estrategia de asignación óptima sólo en pre-antesis (Wardlaw 1967, Schaffer et al. 1982, Chiariello y Roughgarden 1984), ya que los hidratos de carbono acumulados pueden retraslocarse más tarde para el crecimiento y la reproducción, amortiguando el efecto del déficit durante la floración. En las especies perennes tanto silvestres como cultivadas, la acumulación de reservas es un rasgo importante que les permite el re-crecimiento en la próxima estación de cultivo (Wyka 2000, Glover et al. 2010) y por lo tanto es relevante durante todo el ciclo de vida.

El cambio en las prioridades de asignación con baja radiación (un aumento de los TNC en pre-antesis) encontrado en este trabajo para las perennes suele tener una relación directa con la capacidad de perpetuación inter-anual (Stock et al. 1987, Lubbers y Lechowics 1989, Kobe 1997). Esta mayor inversión en hidratos de carbono fue evidente en ambas especies aunque su destino durante la floración parece diferir (Cuadro 2.6). Estos resultados permiten especular una menor longevidad para *P. pinetorum*, que se puso a prueba en el capítulo 4 de esta tesis.

2.4.2 Baja disponibilidad de fotoasimilados: Sombreado post-antesis.

La baja disponibilidad de radiación durante la etapa reproductiva no tuvo efecto en la tasa de crecimiento y en la biomasa total de *P. angustifolia*, *P. gracilis* y *P. mendocina*, pero sí en la perenne *P. pinetorum*. La estabilidad en la RGR y en la biomasa total en las tres especies estuvo acompañada por la estabilidad en los atributos responsables de los ajustes en el crecimiento (LAR, SLA, LMR, RMR, ER, NAR).

La falta de respuesta a la baja irradiancia encontrada en las especies de *Physaria* fue similar a lo que ocurre en otras especies cultivadas, en las cuales la mayor acumulación de materia seca ocurre antes del período de antesis (Siddique et al. 1989, Slafer et al. 1990). Por ejemplo, en cultivos de Lupino (*Lupinus angustifolius*. L) y de Arveja (*Pisum sativum*. L) la acumulación de biomasa y el rendimiento disminuyen cuando la limitación de la fuente ocurre diez días antes del inicio de la floración (Sandaña y Calderini 2012). De la misma manera, para las tres especies evaluadas en este trabajo, un estrés en etapa reproductiva no fue limitante para la acumulación de biomasa. Por el contrario la perenne *P. pinetorum* mostró sensibilidad a la disminución de la asimilación en la etapa reproductiva, con una estrategia conservativa en el uso del carbono adquirido, evidenciado por la disminución de la biomasa total y la RGR (Figura 2.3 b).

La asimilación de CO₂ por unidad de área disminuyó con el sombreado en etapa reproductiva en todas las especies (Figura 2.1 b). A nivel fisiológico las hojas sombreadas durante algún período de su crecimiento resultan en hojas con baja capacidad fotosintética y bajo contenido de nitrógeno por unidad de área, y una mayor inversión total del nitrógeno disponible en compuestos de clorofila y captadores de luz (Evans 1996, Hikosaka y Terashima 1996, Evans y Poorter 2001). La respuesta en *Physaria* es opuesta a la de otras especies capaces de mantener constante su capacidad fotosintética, en las que en general se encuentra al SLA como el parámetro más importante en la determinación de la capacidad de las plantas para aclimatarse a ambientes de distinta radiación. Este mecanismo permite que con la mitad de la irradiancia la hoja pueda mantener el carbono ganado por unidad de masa doblando su SLA (Poorter et al. 2006). Salvo para la especie anual *P. angustifolia* en post-antesis, no encontré en mi experimento evidencia de que el cambio en el SLA pueda

compensar una disminución del 65% de la radiación incidente. La compensación en post-antesis en la anual *P. angustifolia* parece deberse, no obstante, a la disminución notable del ritmo de asimilación coincidente con la senescencia de las hojas al finalizar el ciclo de vida.

Sin embargo, en este sistema, *P. pinetorum* fue la única especie que mostró un aumento del SLA con sombreado reproductivo, el cual no compensó la baja irradiancia debido a que la asimilación de CO₂, la tasa de crecimiento relativo (RGR) y la biomasa total disminuyeron (Figura 2.1 b, Cuadro 2.1 y 2.2). Para las otras tres especies de *Physaria*, la asimilación disminuyó pero el crecimiento se mantuvo estable (Figura 2.1 b y Cuadro 2.1 y 2.2). En este sentido algunos autores describen que existe evidencia sobre la menor importancia relativa del componente fisiológico (asimilación) versus el estructural sobre el crecimiento de algunas plantas y, en esos casos el coeficiente de correlación entre la fotosíntesis máxima y la tasa intrínseca de crecimiento relativo (RGR) suele ser muy bajo (Poorter y Remkes 1990).

En cultivos de grano la sensibilidad a la limitación de la fuente depende del momento en el cual se restringe la radiación (Jiang y Egli 1995, Egli y Bruening 2002, Kantolic et al. 2013). Los resultados encontrados en la perenne *P. pinetorum*, permiten determinar una mayor sensibilidad de esta especie durante el periodo reproductivo, debido a que con baja disponibilidad durante este periodo mantuvo una estrategia conservativa del carbono adquirido, con una disminución de la tasa de crecimiento (RGR) y de la biomasa total.

2.4.3 Alta disponibilidad de fotoasimilados: Remoción de yemas florales.

El incremento en la disponibilidad de asimilados generada por el corte de botones florales modificó las estrategias de asignación de carbono en las cuatro especies de *Physaria*. Como se hizo evidente en los demás tratamientos (SV, SR), estos cambios no estuvieron relacionados con lo esperado para el ciclo de vida anual o perenne (Figura 2.3). *Physaria gracilis* (anual) y *P. pinetorum* (perenne) tuvieron una respuesta similar, intensificando la capacidad de adquisición de carbono, lo cual se hizo evidente con el incremento en la asignación a biomasa y a reproducción (estrategia adquisitiva). Se ha propuesto (Thompson et al. 1995, Egli 1993, Kumudini 2002) que la disponibilidad de asimilados y la acumulación de biomasa muestran una asociación positiva con la asignación a órganos reproductivos. Así, la mayor disponibilidad de asimilados generada por la remoción de estructuras reproductivas puede modificar el patrón de asignación de biomasa, dando como resultado un aumento en el crecimiento (Rood y Major 1984) y en la asignación a reproducción. El aumento de la biomasa suele estar acompañado de un aumento en la asignación a hojas (LMR, Kim et al. 1993). Esta respuesta general fue la encontrada en *P. pinetorum*.

Un incremento en la producción de asimilados podría no implicar un impacto en el rendimiento, a menos que los fotoasimilados sean asignados a los órganos cosechados de importancia económica (Kumudini 2002). En dos de las especies evaluadas *P. gracilis* y *P. pinetorum*, el aumento de la tasa de crecimiento relativo y la biomasa provocado por la remoción de yemas florales determinó una mayor asignación a reproducción (ER, Cuadro 2.4). La mayor capacidad de los destinos (mayor número de botones florales por tallo florífero) fue responsable de una mayor tasa de asimilación (NAR). El cambio en la asimilación puede vincularse al hecho que los destinos no pueden utilizar todos los asimilados disponibles (Egli y Bruening 2002) y acumulan el exceso de asimilados en la hoja lo cual regulará la fotosíntesis (Mondal et al. 1978, Miceli et al. 1995). En otras etapas del ciclo, por ejemplo en pre-floración, se ha encontrado este efecto de los destinos sobre la

fotosíntesis, con un aumento del carbono disponible para el llenado de los granos (Wien y Tayo 1979, Kao 1980, Rood y Major 1984, Borrás et al. 2004).

Otro mecanismo implicado en la asignación a reproducción producto de la remoción temprana de destinos se ha reportado para especies indeterminadas como soja (*Glycine max* (L) Merrill) y colza (*Brassica campestris* L. y *B. napus*). En particular se observa un efecto sobre la fenología y el esfuerzo reproductivo, cuando se remueven estructuras reproductivas: la remoción provoca una extensión del periodo vegetativo debido a la detención del proceso de senescencia foliar (Noodén y Penney 2001).

Pese a los cambios ocasionados por la remoción de estructuras reproductivas en *P. gracilis* y *P. pinetorum*, en las otras dos especies (*P. mendocina* y *P. angustifolia*) la remoción no tuvo efecto sobre el crecimiento y los atributos relacionados a él. En este sentido se ha encontrado que la remoción de yemas florales no cambia la capacidad fotosintética en casos en que los destinos no son limitantes, y el excedente de asimilados producidos por la falta de destinos, se desvía hacia órganos alternativos (estructuras de soporte) y al pool de reservas (Egli y Bruening 2002 Matloobi et al. 2008). En las respuestas de *P. mendocina* y *P. angustifolia*, la estabilidad de la tasa de crecimiento y la biomasa total no fueron, sin embargo, acompañadas por un aumento esperable en las reservas o en la partición de biomasa.

Nuevamente como en los demás tratamientos aplicados (SV, SR) *P. mendocina* presenta un comportamiento más estable frente a la variación en la disponibilidad de recursos, con una estrategia conservativa. La respuesta de esta especie apoya la hipótesis que plantea que las especies perennes son más estables frente cambios en la disponibilidad de recursos (Lubbers 1982).

2. 5. Conclusiones

En este estudio se puso a prueba la hipótesis que plantea que la disponibilidad de asimilados determina diferencias en las estrategias de adquisición y partición de carbono dependientes del ciclo de vida. Se predijo que las especies anuales modificarían algunos caracteres estructurales y funcionales de manera de generar una estrategia adquisitiva, cuando la disponibilidad de recursos es alta. Por el contrario con baja disponibilidad de recursos los cambios en algunos atributos les conferirían una estrategia conservativa del carbono adquirido. Se predijo también que este mismo conjunto de atributos permanecería estable en las especies perennes, independientemente de la disponibilidad de recursos, con una estrategia siempre conservativa.

Los atributos estructurales y funcionales elegidos como determinantes del crecimiento e involucrados en caracterizar las estrategias adquisitiva y conservativa en el uso de los recursos variaron en relación a la disponibilidad de carbono, a la especie (especie-específico), y no fueron estrictamente dependientes del ciclo de vida. Cuando se analizó la biomasa total y la tasa de crecimiento relativa las especies anuales, *P. angustifolia* y *P. gracilis*, respondieron de acuerdo a la hipótesis planteada con un crecimiento y producción poco estables frente a condiciones ambientales cambiantes. En las especies perennes, en cambio, el crecimiento (biomasa total y RGR) tuvo una respuesta diferente, que dependió de la especie y no del ciclo de vida. Por un lado, *P. mendocina*, en general, mostró una estrategia conservativa manteniendo estable su crecimiento cuando las condiciones de disponibilidad ambiental variaron y, por otro, *P. pinetorum* tuvo un comportamiento similar al de las especies anuales, es decir una respuesta notable a la variación en la disponibilidad de recursos (Figura 2.4).

Las reservas almacenadas en pre-antesis fueron el único atributo cuya respuesta se vinculó al ciclo de vida. En las especies anuales la concentración de carbono almacenado en la raíz se encontró constante aún con variaciones de la disponibilidad ambiental, mientras que las dos perennes tuvieron un incremento de las reservas frente a una disminución de la radiación en etapa vegetativa (Figura 2.4). En estas dos especies la menor disponibilidad de radiación en pre-antesis produjo una clara disminución de la asimilación, de la tasa de crecimiento y de la biomasa, y un cambio en la partición en la que se privilegió el almacenamiento de reservas. Estos resultados muestran una clara estrategia conservativa en el uso del carbono adquirido, en la que el almacenamiento representa un destino jerárquico prioritario. Esta mayor inversión a reservas frente a condiciones de estrés suele tener una relación directa con la capacidad de perpetuación inter-anual de las especies perennes (Stock et al. 1987, Lubbers y Lechowics 1989, Kobe 1997).

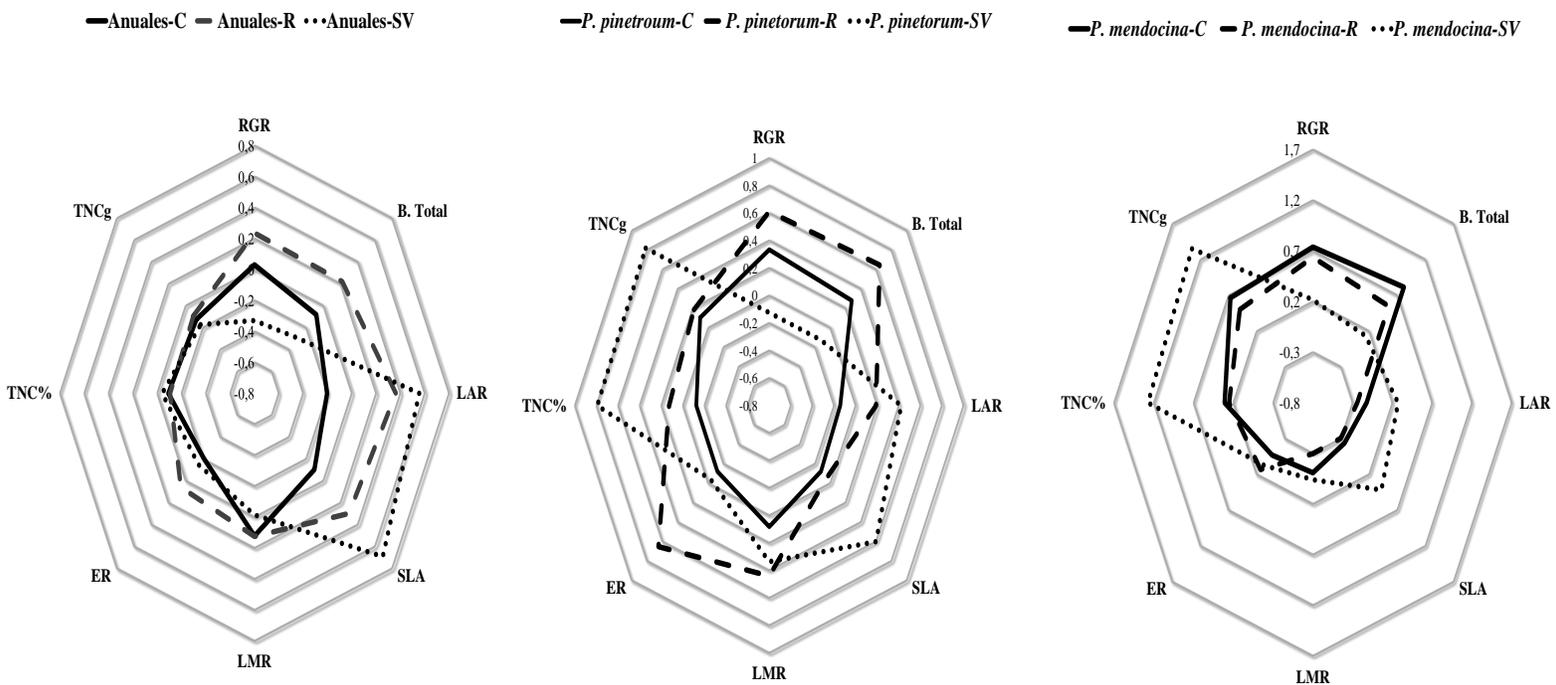


Figura 2.4: Diagramas de araña para las dos especies anuales (*P. gracilis* y *P. angustifolia*) y para cada una de las perennes (*P. pinetorum* y *P. mendocina*). Los diagramas resumen como se asocian los distintos atributos elegidos en relación a los tratamientos aplicados durante el periodo de pre-antesis. Tratamientos: SV= sombreado vegetativo, C= control, R= remoción de yemas florales. Atributos: Relación de área foliar (LAR), área foliar específica (SLA), asignación proporcional a hojas (LMR), esfuerzo reproductivo (ER), proporción de hidratos de carbono no estructurales (TNC %) y contenido de hidratos de carbono no estructurales (TNC g).

Sin embargo, aunque las reservas durante el periodo de pre-antesis se comportaron como se esperaba en relación al ciclo de vida (anuales y perennes) de las especies, esta respuesta difirió entre las dos especies perennes al avanzar el ciclo. En la etapa reproductiva *P. mendocina* mantuvo el contenido de reservas y *P. pinetorum* no, siendo además la única especie que disminuyó su crecimiento como consecuencia de estrés en etapa reproductiva. Estos resultados muestran una estrategia de corto plazo en *P. pinetorum*, en la cual una situación de estrés comprometería su supervivencia futura. Se demuestran así diferencias específicas entre las perennes en la jerarquía del mantenimiento de una roseta viable (longevidad) y la producción de semilla.

En relación a la determinación del período de cultivo para *Physaria*, el conjunto de rasgos estructurales y funcionales evaluados a lo largo de un gradiente en la disponibilidad de carbono en plantas con diferente ciclo de vida permitió establecer el destino jerárquico del carbono, y así, determinar el período más sensible para este grupo de especies. En este sentido en mi trabajo encontré que:

- La disponibilidad de carbono durante el período pre-antesis fue determinante para el crecimiento de las cuatro especies de *Physaria*.
- La disponibilidad de carbono durante el período de post-antesis fue crítica únicamente para la especie perenne *P. pinetorum*.
- La sensibilidad a los diferentes periodos del ciclo y el comportamiento de las reservas sugieren diferencias específicas dentro de las perennes en la jerarquía del mantenimiento de una roseta viable (longevidad) y la reproducción actual.

En torno al debate actual del desarrollo de nuevos cultivos perennes para mantener la sustentabilidad de la agricultura (Pimentel et al. 2012), las estrategias del uso del carbono en las dos especies perennes encontradas en mi trabajo representan ideotipos alternativos para ambientes con diferente disponibilidad de recursos. Por un lado *P. mendocina*, con una estrategia conservativa para la adquisición de carbono, puede ofrecer beneficios como un cultivo perenne que amortigua la biomasa y la asignación a reproducción en años con baja disponibilidad de agua y nutrientes, pero sacrifica una rápida producción de biomasa cuando los recursos son abundantes. Inversamente, *P. pinetorum* exhibe una estrategia intermedia con caracteres que soportan una alta tasa de crecimiento, con lo cual podría ser sensible a periodos infrecuentes de alta disponibilidad de recursos. Sin embargo, esta especie presenta una baja tolerancia a un estrés en el periodo reproductivo y una disminución de las reservas en dicho periodo, lo cual podría variar significativamente la biomasa, la supervivencia y la producción de semilla entre años.

El entendimiento de la influencia ambiental es un paso crítico para la introducción de especies silvestres en cultivo, en particular en ambientes con restricciones. Los ambientes de tipo Mediterráneo poseen sequía terminal y heladas de primavera tardía (Richards 1991), que son limitantes para el crecimiento de las plantas. Las especies anuales y la especie perenne *P. pinetorum*, debido a su inestabilidad en la producción de biomasa en torno a cambios en la disponibilidad ambiental, presentarían dificultades en estos ambientes con alta variación inter-anual de los recursos. Por su parte *P. mendocina* combina una producción moderada de biomasa, con una alta acumulación de hidratos de carbono propia de una estrategia conservativa en el uso de los recursos; en este contexto esta especie sería el ideotipo más adecuado de cultivo para estos sistemas productivos.

En relación a las diferencias encontradas en este capítulo para las dos especies perennes en torno a las reservas carbónicas y su posible implicancia en la longevidad y

reproducción futura, en el capítulo IV se explora con más detalle el rol de los hidratos de carbono en ambas especies. Así se evalúa la influencia de la historia previa de acumulación de hidratos de carbono sobre cambios en la estrategia de adquisición y partición de carbono y su asociación con la supervivencia y estabilidad del rendimiento.

CAPÍTULO III: RESPUESTAS DEL RENDIMIENTO Y SUS COMPONENTES A LA RELACIÓN FUENTE-DESTINO EN ESPECIES ANUALES Y PERENNES DE *PHYSARIA* (BRASSICACEAE).

Nota: Este capítulo fue publicado en *Industrial Crops and Products*: **Masnatta, W,** y Ravetta, D. 2011. Seed-yield and yield components response to source–sink ratio in annual and perennial species of *Lesquerella* (Brassicaceae). *Ind. Crops Prod.*, 34: 1393– 1398

3.1 Introducción

A pesar de los beneficios de los sistemas de cultivos perennes y la necesidad de diversificación de la producción agrícola, el desarrollo de cultivos perennes afronta el compromiso entre la perennidad y el rendimiento, predicho por la teoría de la historia de vida (Stearns 1992). Este supuesto ha sido discutido, y se ha propuesto que las especies perennes producen una pequeña cantidad de semillas como resultado de la selección natural en un ambiente estable y competitivo en el cual se favorece la longevidad, lo que entonces transformaría el problema en una cuestión de partición de asimilados (DeHaan et al. 2005). Algunos autores sugieren que por selección y mejoramiento es posible incrementar el rendimiento sin descartar atributos asociados con la perennidad, debido a que la selección simultánea para caracteres negativamente relacionados podría ser exitosa (Cox et al. 1999).

Sin embargo, uno de los problemas de la selección por rendimiento en especies perennes es que la producción de semillas de las accesiones mejoradas suele aumentar sólo durante el primer año y luego disminuye notablemente en años subsiguientes es decir, se reduce la longevidad del cultivo (tendencia a la “anualización”, Piper 1992). Incluso los defensores de los cultivos de grano perennes han establecido que no se pueden esperar altos rendimientos comparables a los granos anuales debido a las compensaciones entre la semilla y atributos relacionados a la perpetuación y longevidad (Wagoner y Schaeffer 1990).

La longevidad podría estar asociada con una mayor adquisición. Por lo tanto, una planta que viva un periodo más puede asignar menos de su total de recursos para la reproducción en forma de porcentaje, mientras que su cantidad absoluta puede aumentar. En la agricultura, un mayor índice de cosecha (unidades de grano por unidades de biomasa aérea) ha sido un camino importante para el rendimiento. Pero el rendimiento es el objetivo principal, no el índice de cosecha. Una pequeña cantidad de índice de cosecha podría ser sacrificado si la productividad total del sistema fuera incrementada (Dehaan y Van Tassel 2014). También otros autores han propuesto que el crecimiento compensatorio en plantas perennes estaría manejado por los productos de la fotosíntesis actual, y no siempre implicaría el uso de las reservas almacenadas (Richards y Caldwell 1985), con lo cual la longevidad de la planta no siempre se vería comprometida.

Los mayores esfuerzos en el desarrollo de versiones perennes de cultivos ya establecidos se han hecho en cereales (por ejemplo, centeno, maíz, arroz y sorgo) y particularmente en mejoramiento de trigo perenne que es una opción en regiones agrícolas de secano (Wagoner 1990, Glover et al. 2010). Estos cultivos perennes de grano han sido originados a partir de la domesticación de especies silvestres o de la hibridación de los cultivos anuales actuales con sus parientes perennes (Cox et al. 2002). Particularmente para el trigo, la domesticación y comercialización ha sido difícil pero, por ejemplo, su hibridación con versiones perennes de otros cereales ha proporcionado material genético útil para la

tolerancia a enfermedades, resistencia al frío, madurez temprana y tolerancia a la sequía en el trigo anual (Friebe et al. 1996).

También se ha avanzado en la domesticación de oleaginosas perennes con idea de combinar el rendimiento de una especie anual con la longevidad de su silvestre perenne (Hulke y Wyse 2008, Kantar et al. 2014). La selección recurrente para aumentar la producción de semillas ha tenido éxito en dos especies perennes silvestres relacionadas con el girasol, *Helianthus maximiliani* y *Silphium integrifolium*. Cada especie silvestre tiene un conjunto diferente de características que limitan su utilidad como un cultivo de grano y cada una tiene únicas adaptaciones más allá del hábito perenne que podrían aumentar su valor o acelerar su domesticación. Por ejemplo, *S. integrifolium* tiene raíces profundas y es relativamente poco afectada por la sequía a corto plazo, mientras que *H. pauciflorus* es propagada fácilmente por reproducción asexual haciendo cultivares clonales factibles (Van Tassel et al. 2014).

Tanto en perennes como en especies anuales, las mejoras del rendimiento han avanzado en base a la comprensión de alteraciones en la relación fuente-destino durante las diferentes etapas fenológicas (Borrás et al. 2004, Wagoner 1995, Davies et al. 2005). En este sentido, se ha reportado para cultivos como soja (*Glycine max* (L) Merrill) y colza (*Brassica campestris* L. y *B napus*) un efecto sobre la fenología y el esfuerzo reproductivo cuando se remueven estructuras reproductivas: la remoción provoca una extensión del periodo vegetativo debido a la detención del proceso de senescencia foliar (Noodén y Penney 2001). Otra consecuencia de este proceso es el incremento de la actividad fotosintética durante la etapa vegetativa (Borrás et al. 2004) con un aumento del carbono disponible para el llenado de los granos (Wien y Tayo 1978, Kao 1980, Rood y Major 1984).

La relación fuente-destino que regula la partición de carbono en las plantas, es moderada por numerosos factores, dentro de los que se incluye la capacidad buffer de los órganos de almacenamiento (Patrick 1988, Wardlaw 1990). La magnitud de la movilización de reservas durante el llenado de grano y la contribución de estas reservas al rendimiento dependen de cómo las diferentes especies son afectadas por la relación fuente-destino, la cual a su vez está fuertemente influenciada por las condiciones del ambiente (Sadras et al. 1993). Así, estas asociaciones involucradas en la variación de fotoasimilados no son estáticas y pueden cambiar a lo largo del período de desarrollo del cultivo (Cárcova et al. 2004). Por ejemplo, una reducción del suministro de fotoasimilados en pre-antesis reduce el carbono almacenado durante esta etapa (Gallagher et al. 1975, Snyder et al. 1993), disminuye el crecimiento y la expansión del área foliar (Kumudini 2002), y modifica la composición química de la hoja (nitrógeno y contenido de clorofila). Todos estos cambios pueden reducir la capacidad fotosintética de la planta (Ashraf y Bashir 2003) y así el rendimiento final. La evaluación temprana del equilibrio fuente-destino de un cultivo puede ofrecer la posibilidad de ajustar programas de selección y prácticas agrícolas propias de ese cultivo (Bingham et al. 2007)

El objetivo de este capítulo fue determinar el efecto de la relación fuente-destino en el rendimiento de semilla y sus componentes en especies anuales y perennes de *Physaria*. Se espera que la disponibilidad de fotoasimilados determine diferencias dependientes del ciclo de vida, en las estrategias de adquisición y partición de carbono (Hipótesis 1). Se predice que:

Predicción 1.3: Las diferencias en el patrón de asignación de especies anuales y perennes determinarían en las perennes una mayor estabilidad del rendimiento ante cambios

en la disponibilidad de asimilados (relación fuente-destino), en relación a sus co-genéricas anuales.

Predicción 1.4: Debido a que el peso de la semilla es el componente del rendimiento más homeostático (Harper 1967), la variación del rendimiento debido a modificaciones en la relación fuente-destino, estará determinado por cambios en el número frutos por planta y el número de semillas por fruto.

Predicción 1.5: En las especies anuales la alta disponibilidad de fotoasimilados determinará una mayor asignación a rendimiento, como consecuencia de una mayor duración de la etapa reproductiva y una mayor producción de frutos. Por el contrario, en las especies perennes la duración de la etapa reproductiva no se verá modificada y como consecuencia el rendimiento y sus componentes se mantendrán estables.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 General

Para poner a prueba la Hipótesis 1 y las predicciones 1.3, 1.4 y 1.5, se realizó un experimento en condiciones de campo durante la estación de crecimiento que abarcó desde el 18 de febrero de 2008 hasta el 15 de diciembre del año 2008, en Gaiman-Chubut Argentina (43° 14'S, 65° 18'W). La temperatura media fue de 12,2 °C, con una máxima media de 20,05 y una mínima de 4,95 °C. El total de precipitaciones caídas en la zona durante el año del experimento fue de 108,5 mm.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con dos factores: relación fuente-destino y especie. Estos tratamientos tuvieron como objetivo disponer de grupos de plantas con diferente disponibilidad de fotoasimilados. De esta manera se dispusieron cuatro tratamientos de relación fuente-destino los cuales fueron aplicados a las cuatro especies de *Physaria*, dos perennes: *P. mendocina* y *P. pinetorum*, y dos especies anuales: *P. angustifolia* y *P. gracilis*. Las semillas usadas en este experimento pertenecen a líneas que se han sometido a tres ciclos de selección. El criterio de selección para estas líneas fue el rendimiento de semilla por planta individual, de stands de plantas creciendo en jardines introductorios (González-Paleo 2010).

Para este experimento las semillas fueron sembradas inicialmente en bandejas de germinación con tierra: turba (1:1 para el volumen) el 18 de febrero de 2008 y mantenidas en invernáculo hasta el trasplante al campo, 59 días después de la siembra (DDS; 18 de abril de 2008).

Para generar un rango en la relación fuente-destino, se redujo la radiación incidente (reducción de la fuente) o se removieron los botones florales (reducción de los destinos). Los cuatro tratamientos aplicados fueron: (1) sombreado en pre-antesis: a partir de los 106 días después del trasplante (DDT) hasta el momento en que todas las especies alcanzaron la antesis (157 DDT anuales, y 169 DDT perennes); (2) sombreado post-antesis: desde el momento en que todas las especies alcanzaron la antesis hasta madurez fisiológica (238 DDT anuales y 246 DDT perennes); (3) remoción de yemas florales (sensu Horvitz y Schemske 1988, McLaughlin 2003, Sandvik 2001), y (4) control, plantas no tratadas.

Las parcelas fueron sombreadas con media sombra en color negro con una malla que interceptó el 65 % de la radiación fotosintéticamente activa. La media sombra fue colocada sobre estructuras de metal de 1 m de altura, de manera de permitir la circulación de aire y no generar un microclima en las parcelas.

Cada tratamiento fue aplicado a 5 parcelas (repeticiones). Cada parcela tuvo un total de 10 plantas, dispuestas con una distancia entre plantas de 0,17 m y 0,4 m entre hileras. Durante el curso del experimento la precipitación total fue de 108,5 mm. Se regó con una frecuencia de 20 días durante la etapa reproductiva, ya que es crítico para la determinación del rendimiento, al menos para otras especies del género (*P. flendleri*, Puppala 2004) y coincide con la estación seca en el área de estudio. Las malezas fueron removidas manualmente para evitar la competencia

3.2.2 Mediciones y Observaciones

Cinco plantas por especie y tratamiento fueron cosechadas al final del periodo de llenado de grano. La biomasa se dividió en brotes vegetativos, raíces, semillas, frutos y estructuras de soporte (estructuras de los órganos reproductores que no sean semillas y frutos), siguiendo Ploschuk et al. (2005). Cada fracción fue secada a 70°C durante 48 horas y luego se pesó.

Los componentes del rendimiento (gramos de semilla por planta, número de frutos por planta, número de semillas por fruto y peso de la semilla) fueron medidos para una planta de cada una de las 5 repeticiones. El peso de la semilla individual se estimó utilizando una muestra de 50 semillas por planta.

Se siguió la dinámica del desarrollo con mediciones semanales del número de plantas que alcanzaron los diferentes estadios fenológicos. Se utilizó la escala desarrollada por Windauer et al. (2004): botón floral, floración, fructificación y madurez fisiológica. A partir de estos datos se calculó la duración del ciclo de crecimiento (días hasta la madurez fisiológica), la duración de la antesis (floración) y de la etapa de post-antesis (madurez fisiológica).

3.2.3 Análisis estadísticos

El diseño utilizado fue un análisis de Varianza de parcelas sub-divididas de tres factores fijos. Los tres factores a ser analizados fueron: Sombreado, Especies y la Remoción. La Parcela principal fue el sombreado con tres niveles: sombreado pre-antesis, sombreado post-antesis y, no sombreado. La sub-parcelas fueron las especies con cuatro niveles: *P. angustifolia*, *P. gracilis*, *P. pinetorum* y *P. mendocina*. Las sub-subparcelas correspondieron al factor remoción con dos niveles: remoción y no remoción. Cuando las interacciones fueron significativas, se realizó un ANOVA de un factor para cada especie. El test de Tukey fue usado como test a posteriori para detectar diferencias significativas entre combinaciones de factores

Se utilizó ANOVA de dos factores (especie x relación fuente-destino) para comparar los efectos de la manipulación de la relación fuente-destino sobre el rendimiento de semilla y sus componentes.

Para determinar la contribución relativa de los componentes del rendimiento al rendimiento de semilla, asociados a la relación fuente-destino, se realizaron dos análisis de vías para comparar: 1) El efecto del sombreado pre-antesis y 2) el efecto de la eliminación de los botones florales, ambos relativos al tratamiento control. Los análisis de vías se realizaron con el programa AMOS (Arbuckle y Wothke 1999). Los coeficientes de regresión estandarizados permiten una estimación de cómo un cambio en una unidad de desviación estándar de una variable afecta a otra variable (también expresado en unidades de desviación estándar) independiente de otras variables.

3.3. Resultados

3.3.1 Efecto de la relación fuente-destino sobre el rendimiento de semilla y sus componentes.

Para las cuatro especies, la respuesta del rendimiento a variaciones en la relación fuente-destino fue similar. Comparado con el rendimiento de las plantas control el más bajo rendimiento fue encontrado en las plantas sombreadas durante el periodo de pre-antesis. Las plantas a las cuales se les removieron las yemas florales tuvieron el rendimiento más alto y plantas con sombreado post-antesis presentaron rendimientos intermedios ($p < 0,05$, Figura 3.1).

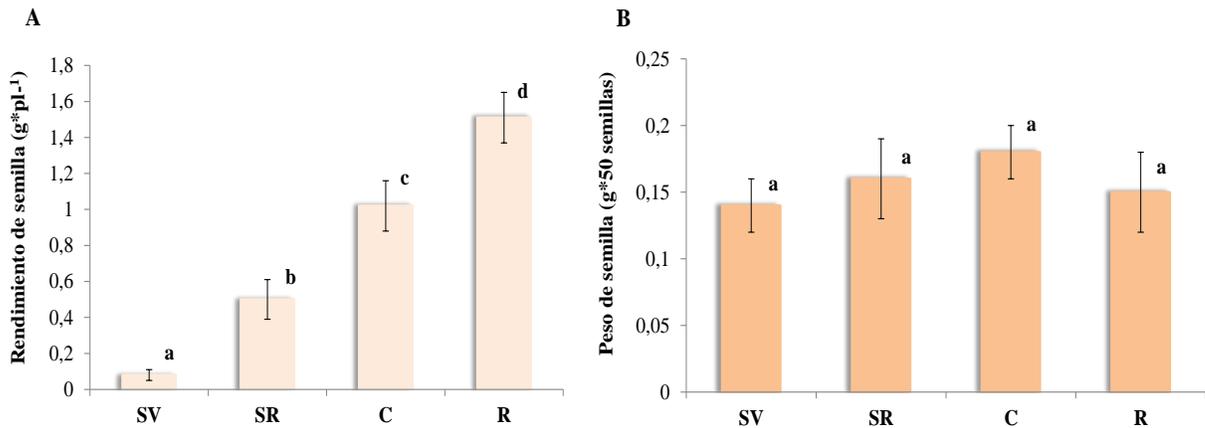


Figura 3.1: Efecto de la relación fuente-destino (SV=sombreado pre-antesis, SR= sombreado post-antesis, C= control y R= remoción de yemas florales) sobre el rendimiento (A) y el peso de semilla (B). Las cuatro especies fueron agrupadas dado que las respuestas al tratamiento fuente-destino no difirió entre ellas (interacción especie y tratamiento no significativa). Los valores son las medias \pm E.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Hubo diferencias entre especies en el número de frutos por planta en respuestas a las manipulaciones fuente-destino (interacción significativa entre especies y tratamientos fuente-destino; $p < 0,05$). Cuando las plantas fueron sombreadas en pre-antesis, el número de frutos por planta fue el más bajo para las cuatro especies. En el tratamiento de remoción, la mayor respuesta en el número de frutos fue encontrada para *P. angustifolia*, *P. gracilis* y *P. pinetorum*. En cambio la perenne *P. mendocina* mantuvo estable su número de frutos en todos los tratamientos, excepto para el sombreado en etapa de pre-antesis, donde el número de frutos por planta disminuyó (Figura 3.2).

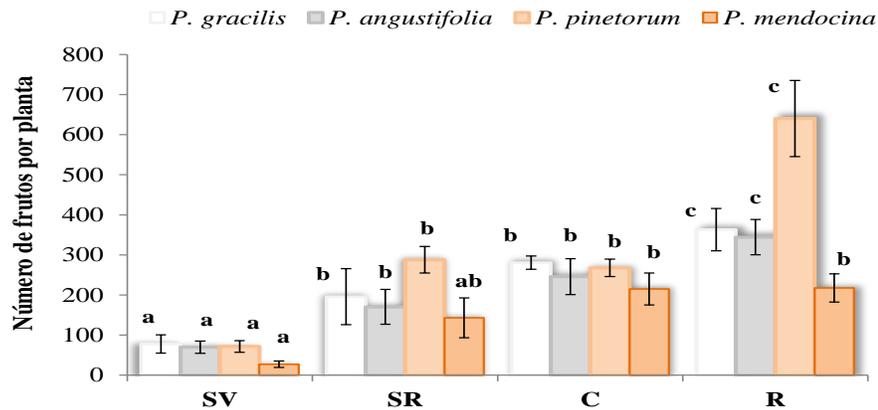


Figura 3.2: Efecto de la relación fuente-destino (SV=sombreado pre-antesis, SR= sombreado post-antesis, R= remoción de yemas florales) sobre el número de frutos por planta, para cuatro especies de *Physaria*. Los valores son las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de los tratamientos fue analizado para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

La respuesta del número de semillas por fruto a la manipulación fuente-destino difirió entre especies (interacción significativa, $p < 0,05$). En las cuatro especies el número de semillas por fruto fue más bajo con el tratamiento de sombreado vegetativo. La remoción de yemas florales incrementó el número de semillas por fruto en *P. pinetorum*, mientras que en las otras tres especies no hubo diferencias significativas en el número de semillas por fruto entre tratamientos de disponibilidad de fotoasimilados (Figura 3.3).

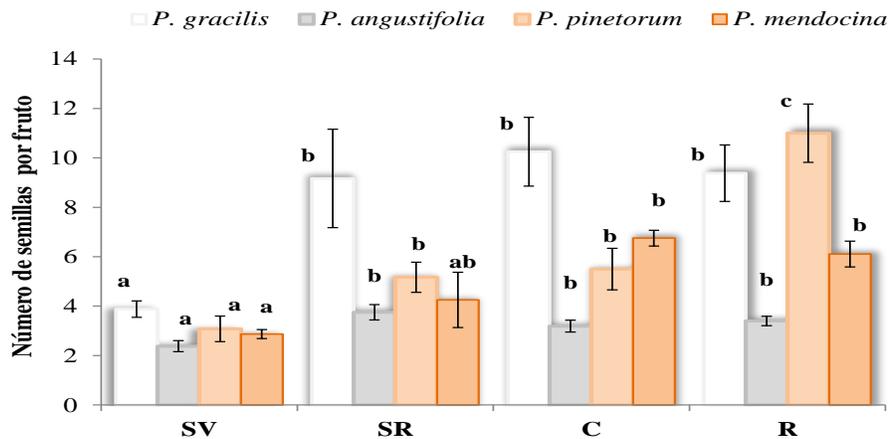


Figura 3.3: Efecto de la relación fuente-destino (SV=sombreado pre-antesis, SR= sombreado post-antesis, C= Control y R= remoción de yemas florales) sobre el número de semillas por fruto para cuatro especies de *Physaria*. Los valores son las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de los de los tratamientos fue analizado para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

3.3.2 Efecto de la relación fuente-destino sobre la duración de las etapas de pre y post-antesis.

Únicamente el tratamiento de remoción de yemas florales resultó en cambios en la duración de las etapas vegetativa y reproductiva (interacción significativa tratamiento* especie $p < 0,005$). En la etapa de pre-antesis, la remoción provocó cambios únicamente en la especie anual *P. angustifolia*, con un alargamiento de la etapa (Cuadro 3.1). También, la remoción de yemas florales determinó cambios en la duración de la etapa reproductiva, los cuales no estuvieron vinculados al ciclo de vida de las especies. Así, este tratamiento de remoción extendió el periodo reproductivo de las anuales, *P. gracilis*, *P. angustifolia* y de la perenne *P. pinetorum*. Por su parte, la perenne *P. mendocina* no cambió su fenología debido al tratamiento de remoción (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1: Efecto de relación fuente-destino (SV=sombreado pre-antesis, SR= sombreado post-antesis C= control y R= remoción de yemas florales) sobre la duración de las etapas de pre y post-antesis (DDS, días después de la siembra) para las cuatro especies de *Physaria*. Los valores son las medias \pm E.E. La interacción tratamiento * especie resultó significativa ($p < 0,05$) por lo cual el efecto de los tratamientos fue analizado para cada especie por separado. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada especie por separado.

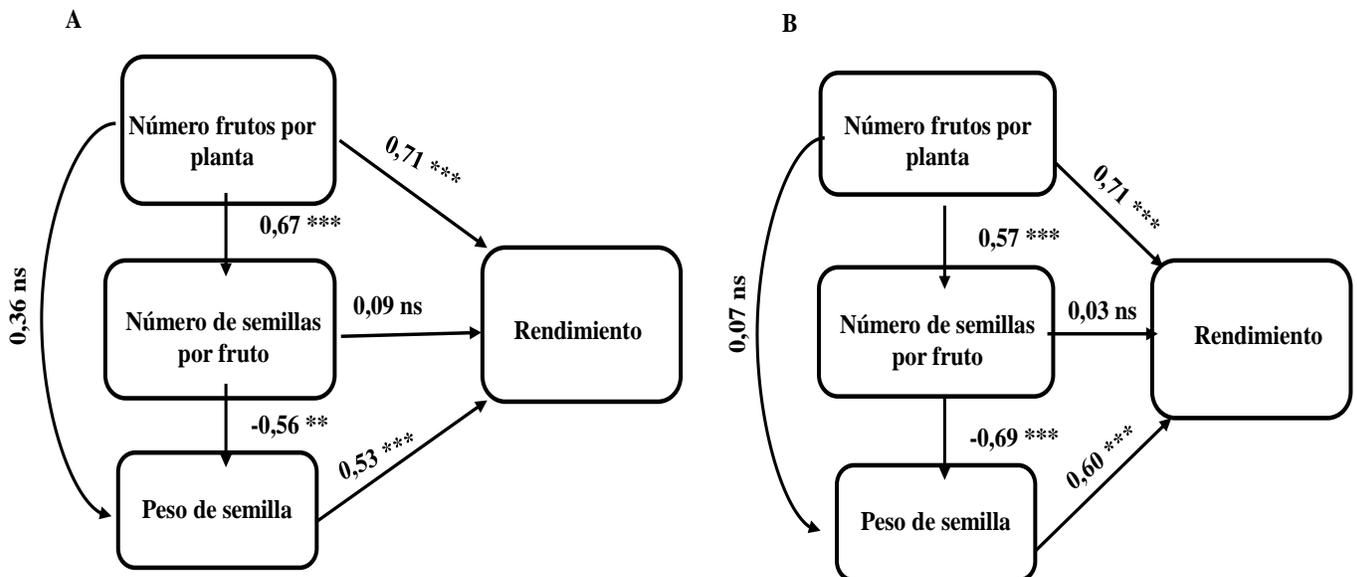
Fenología (DDS)	Tratamientos Fuente-Destino	<i>P. gracilis</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>P. pinetorum</i>	<i>P. mendocina</i>
Duración de la etapa de pre-antesis (Botón - Floración)	SV	42 \pm 3 a	42 \pm 3 a	40 \pm 2 a	40 \pm 2 a
	SR	36 \pm 2 a	36 \pm 2 a	33 \pm 2 a	33 \pm 2 a
	C	36 \pm 2 a	36 \pm 2 a	33 \pm 2 a	33 \pm 2 a
	R	36 \pm 2 a	54 \pm 3 b	33 \pm 2 a	33 \pm 2 a
Duración de la etapa de post-antesis (Floración- Madurez)	SV	81 \pm 4 a	81 \pm 4 a	78 \pm 3 a	78 \pm 3 a
	SR	81 \pm 2 a	81 \pm 2 a	78 \pm 3 a	78 \pm 3 a
	C	81 \pm 2 a	81 \pm 2 a	78 \pm 3 a	78 \pm 3 a
	R	97 \pm 3 b	97 \pm 3 b	93 \pm 3 b	78 \pm 3 a

3.3.3 Contribución relativa de los componentes del rendimiento a la producción de semillas.

Cuando se compararon los tratamientos de control y sombreado pre-antesis, el rendimiento de semilla fue explicado principalmente por dos variables: el número de frutos por planta y el peso de la semilla (Figura 3.4 A). Los análisis de vías permitieron cuantificar la importancia relativa de los efectos directos e indirectos. El número de frutos por planta afectó negativamente el rendimiento a través de efectos indirectos sobre el número de semillas por fruto y el peso de la semilla. No obstante, el efecto negativo indirecto de esta variable sobre el rendimiento fue relativamente más bajo ($\beta = -0,049$) que el efecto directo ($\beta = 0,71$; Figura 3.4 A). Por otro lado, el número de semillas por fruto no explicó diferencias en el rendimiento.

Las relaciones funcionales entre el rendimiento y sus componentes encontradas para el tratamiento de remoción de yemas florales fueron las mismas a las encontradas para el sombreado pre-antesis. Se observó un efecto directo y positivo sobre el rendimiento del número de frutos por planta y del peso de las semillas (Figura 3.4 B) y un efecto negativo indirecto sobre el número de frutos por planta. El efecto indirecto fue más bajo ($\beta = -0,18$) que el efecto directo ($\beta = 0,71$; Figura 3.4 B).

Figura 3.4: Diagrama de vías para las cuatro especies juntas, mostrando los efectos de los componentes del rendimiento sobre el rendimiento ($\text{g semilla} \cdot \text{planta}^{-1}$) para plantas que recibieron: A) sombreado pre-antesis y B) remoción de yemas florales. Se muestran los coeficientes de regresión directos entre variables. Los coeficientes indirectos se calculan multiplicando los coeficientes directos de todas las vías posibles. Los asteriscos indican efectos significativos de los coeficientes: *** ($p < 0,01$) y ** ($p < 0,05$).



3.4 Discusión

En los intentos para identificar los factores fisiológicos que limitan el rendimiento se deben integrar las interacciones fuente-destino, espacial y temporalmente (Patrick 1988). Por su impacto sobre el éxito reproductivo (y en última instancia el fitness) este balance ha estado fuertemente influido por la selección natural determinando la existencia de diferentes estrategias de vida (Stearns 1992). Mientras que las especies silvestres anuales invierten la mayoría de los carbohidratos en la formación de semilla, las herbáceas silvestres perennes usan una mayor proporción de carbono para producir raíces y órganos de almacenamiento (Chapin 1980, Schultz 1982, Tilman 1988). Esta capacidad de almacenamiento no solo es utilizada en la perpetuación interanual sino que puede proveer una fuente de carbono durante períodos de estrés. La existencia de esas diferencias en la acumulación de reservas y sus usos generó mis predicciones las cuales sostienen que frente a diferencias en la relación fuente-destino (producidas por diferencias en la disponibilidad ambiental) las especies perennes tendrían un rendimiento más estable que sus co-génericas anuales.

En contra de esta predicción se encontró que las especies anuales y las perennes mostraron una respuesta similar del rendimiento frente a la variación de la relación fuente-destino. En las cuatro especies, el rendimiento disminuyó con el tratamiento de sombreado pre-antesis, y se incrementó con la remoción de yemas florales (Figura 3.1). La disminución del rendimiento resultó de cambios en el número de frutos por planta y en el número de semillas por fruto. Esta misma respuesta a la reducción en el suministro de asimilados pre-antesis fue encontrada en otra Brassicaceae anual, *Brassica napus* (Tayo y Morgan 1979, Diepenbrok 2000) y en girasol (Cantagallo y Hall 2002), ambas especies con un proceso de domesticación mucho más avanzado que el género *Physaria*.

Aunque no se exploraron todos los posibles mecanismos detrás de estas respuestas, la reducción en el suministro de asimilados pre-antesis puede determinar cambios en las reservas pre-antesis (Snyder et al. 1993), en el desarrollo del área foliar y en el crecimiento (Kumudini 2002) y composición química de la hoja (contenido de nitrógeno y clorofila de la hoja). Todos estos caracteres afectan la capacidad fotosintética de la planta (Ashraf y Bashir 2003) y su rendimiento final.

El efecto de la remoción de yemas fue un incremento del rendimiento, en el número de frutos por planta para tres de las especies (las dos anuales y la perenne *P. pinetorum*) y en el número de semillas por fruto sólo en *P. pinetorum* (Figuras 3.2 y 3.3), lo cual sobrecompensó el rendimiento final. El incremento en el rendimiento estuvo asociado al alargamiento de la etapa reproductiva (Cuadro 3.1). Un número de mecanismos compensatorios se han encontrado en otras especies. Por ejemplo, un incremento en los destinos causa un incremento en la tasa fotosintética (Gifford y Evans 1981, Garnier 1992). En este sentido, se ha reportado para otras especies de Brassicaceae (por ej. *B. campestris*, Biswas y Mandal 1987 y *B. napus*, Rood et al. 1984), que la remoción temprana de las estructuras reproductivas retrasa la senescencia de las hojas y los tallos, lo cual puede contribuir por más tiempo a la fotosíntesis durante el periodo de post-antesis (Noodén y Penney 2001). La extensión del periodo reproductivo con el incremento de la tasa fotosintética podría ser el mecanismo compensatorio que da como resultado el mayor número de frutos para las anuales *P. gracilis*, *P. angustifolia* y la perenne *P. pinetorum*.

El incremento en la relación fuente-destino causado por la remoción de yemas florales podría resultar también en un incremento del índice de área foliar y crecimiento de la hoja durante el llenado de grano (Kumudini 2002), lo cual se traduce en un incremento de la ganancia de carbono. Al mismo tiempo, y de manera general, en especies perennes de

floración indeterminada es frecuente encontrar sobre-compensación del rendimiento sustentada en el aumento de la reservas de corto plazo (Obeso 1993). Aún cuando en el corto plazo esta respuesta ayudaría a mantener el rendimiento, en una planta perenne, podría reducir la longevidad de la planta, debido a que las reservas usadas para el rendimiento actual no estarían disponibles para el futuro crecimiento.

La sobre-compensación del rendimiento se encontró sólo en *P. pinetorum*, sugiriendo potenciales diferencias en la jerarquía de los patrones de asignación entre las dos especies perennes evaluadas. Estos resultados concuerdan con reportes previos (González-Paleo y Ravetta 2011 a y b) que muestran que *P. mendocina* tiene una estrategia de historia de vida típica de una especie perenne, mientras *P. pinetorum*, a pesar de tener una forma de vida perenne, posee muchos atributos comúnmente encontrados en las especies anuales. Los mecanismos detrás de esas respuestas deben ser puestos a prueba, especialmente el entendimiento de la importancia de las reservas, la fotosíntesis actual y la partición de carbono en la determinación de los componentes del rendimiento, el rendimiento y la longevidad de la planta.

El análisis de los componentes del rendimiento se ha utilizado para diseñar programas eficientes de mejora (Egli 1998). La selección para incrementar un componente no siempre resulta en un incremento del rendimiento debido al efecto compensatorio que existe entre ellos (Millares y Slafer 1995). El análisis de la existencia de relaciones negativas entre diferentes componentes del rendimiento facilitaría la selección de criterios indirectos para incrementar la producción de semilla por planta. En mi trabajo para dilucidar los efectos directos e indirectos (ej. efectos compensatorios) de los componentes del rendimiento sobre la variación del rendimiento de semilla, realicé un análisis de vías (path analysis) para los tratamientos de sombreado pre-antesis y remoción (Figura 3.4 A y B). Se encontraron efectos compensatorios entre componentes del rendimiento para ambos tratamientos. Por ejemplo, se detectó una relación directa negativa entre el número de semillas por fruto y el peso de la semilla, y una relación indirecta negativa entre el número de frutos por planta y el peso de la semilla a través del número de semillas por fruto. Sin embargo, este efecto fue menos relevante para el rendimiento de semilla que el efecto directo del número de frutos por planta. Mientras que el número de semillas por fruto cambió con la relación fuente-destino (Figura 3.3), la relación entre este componente y el rendimiento de semilla no fue significativa en el análisis de vías. Así, en contra de la predicción propuesta en este capítulo, el número de semillas por fruto no explicó el rendimiento aunque sí el peso de la semilla, que fue el componente más homeostático, de acuerdo a la predicción planteada. Estos resultados concuerdan con lo reportado para otros cultivos (Slafer y Savin 1994, Haro et al. 2008), los cuales muestran un alto grado de homeostasis en el peso de la semilla, a pesar de la variación en la disponibilidad de asimilados.

Finalmente, a pesar del efecto compensatorio se encontró que el número de frutos por planta es un buen predictor del rendimiento para las especies de *Physaria* y que podría ser usado como un criterio de selección indirecto en programas de mejoramiento.

3.5. Conclusiones

Los cambios en el rendimiento y sus componentes resultantes de la manipulación en la relación fuente-destino fueron independientes del ciclo de vida (anual o perenne). En las cuatro especies el rendimiento disminuyó con el sombreado pre-antesis y aumentó con la remoción de yemas florales. La ganancia de carbono durante el periodo de crecimiento vegetativo puede ser relativamente más importante para el rendimiento que la fotosíntesis actual durante el período de llenado de grano, lo cual significa que la acumulación de reservas podría jugar un rol clave tanto en especies anuales como perennes de este género.

Por otra parte, el efecto compensatorio del rendimiento generado por el incremento de dos de los componentes del rendimiento (número de frutos por planta y número de semillas por fruto) y la extensión de la etapa post-antesis, encontrado en el tratamiento de remoción, si bien sugiere una ventana más amplia para la determinación del rendimiento y sus componentes, podría potencialmente reducir la longevidad en especies perennes.

Los mecanismos detrás de esas respuestas necesitan ser evaluados incorporando otros atributos morfo-fisiológicos de importancia para la estabilidad del rendimiento. En particular, es de importancia el entendimiento de la función de las reservas carbonadas, la fotosíntesis actual y la partición de carbono como determinantes del rendimiento y sus componentes y su efecto sobre la supervivencia y la longevidad en las especies perennes de *Physaria*. Estos objetivos son evaluados en el capítulo 4 de esta tesis.

Los cambios en el rendimiento fueron debidos principalmente a la variación en el número de frutos por planta. De esta manera se propone que este componente es un buen proxy para incrementar el rendimiento en estas cuatro especies de *Physaria* y que podría ser utilizado como un criterio de selección indirecto en programas de mejoramiento.

CAPÍTULO IV: INFLUENCIA DE LA ACUMULACIÓN PREVIA DE HIDRATOS DE CARBONO EN LA RESPUESTA DE LAS ESPECIES PERENNES A LA MANIPULACIÓN DE LA RELACIÓN FUENTE DESTINO.

4.1 Introducción

El entendimiento de la dinámica del carbono en especies anuales no alcanza para caracterizar esta dinámica en especies perennes, en las cuales el almacenamiento a largo plazo y el rebrote imponen una estrategia más global (Chiarello y Roughgarden 1984, Lubbers y Lechowics 1989, Wyka 2000). La dinámica fuente-destino dirige cuánto, dónde y cómo se asignan los carbohidratos, y así se determina la proporción de materia cosechable (Slewinsky 2012). Esta dinámica está fuertemente influenciada por las condiciones del ambiente del cultivo (Sadras et al. 1993).

La cantidad de hidratos de carbono movilizados entre los diferentes órganos de la planta es difícil de determinar (Wardlaw 1990). A diferentes niveles de radiación las plantas obtienen diferentes cantidades de carbono a través de la fotosíntesis, y reparten este carbono de manera diferente entre la construcción y mantenimiento de la biomasa y las varias otras funciones metabólicas. Con alta radiación, un suministro continuo de asimilados permite altas tasas metabólicas y de crecimiento, al mismo tiempo que se pueden mantener o incrementar las reservas. Una disminución de la radiación causa un problema de equilibrio de carbono inmediato en los tejidos con alta actividad metabólica, en particular los órganos en crecimiento. En estas circunstancias, los hidratos de carbono almacenados son una importante, o incluso la única, fuente de energía (Veneklaas y Poorter 1998).

En especies anuales, cultivadas, las reservas mejoran la estabilidad del rendimiento por proveer una fuente alternativa de carbono cuando la capacidad fotosintética declina, durante las fases tardías del llenado de granos, o durante períodos de estrés biótico y/o ambiental (Slewinsky 2012). La contribución que hacen las reservas al rendimiento varía en gran medida con la disponibilidad de recursos del ambiente, las condiciones de crecimiento y el cultivar. Puede oscilar entre 10 % y 20 % en condiciones libres de estrés (Gebbing et al. 1999, Shearman et al. 2005) y hasta un 50 % bajo estrés severo (Blum 1998, van Herwaarden et al. 1998). Por esta razón, la capacidad de almacenar y removilizar cantidades significativas de hidratos de carbono de reserva constituye un rasgo deseable para incorporar en cultivos para zonas en donde es frecuente la sequía al final de la estación de crecimiento (Asseng y van Herwaarden 2003, Chapman 2008).

En especies perennes las reservas presentan funciones adicionales a la de aportar energía para la fructificación, como lo son amortiguar las demandas de mantenimiento y de crecimiento que no se encuentran sincronizadas con el período en el cual ocurre la fotosíntesis actual (Richards 1991, Borrás et al. 2004). Entre esas funciones, permiten tolerar extremos ambientales (frío, viento, sequía, etc.) y contribuyen a la generación de mecanismos de defensa contra patógenos y herbívoros (Larcher y Thomaser-Thin 1988, Meletiou-Christou et al. 1992, Rizopoulou et al. 1989), además de almacenar un pool extra de reservas para el re-crecimiento de nuevos tejidos, la supervivencia, la perpetuación y reproducción futuras (Wyka 2000, Matsuoka y Garcia 2011). En la mayoría de las plantas perennes las reservas tienen un máximo de acumulación al final del crecimiento vegetativo, para ser usadas durante la floración y la producción de semilla (Komor 2000, Rae et al. 2005) o también se recargan para ser asignadas al rebrote después de un evento de defoliación (Pate et al. 1990, Bell et al. 2010).

Debido a esta multiplicidad de funciones y necesidad de almacenamiento a largo plazo, en general, las reservas se almacenan en las raíces, que por lo tanto suelen ser tener

una mayor biomasa proporcional (RMR, root mass ratio) y mayor permanencia (menor tasa de recambio) que las de las plantas anuales (Chapin et al. 1993, Coley et al. 1985, Poorter et al. 2009). Esta mayor asignación de recursos a estructuras subterráneas, asociada al ciclo perenne, puede proveer ventajas agro-ecológicas en ambientes frágiles (Vico et al. 2015). Así, el mayor tiempo de permanencia y la perennidad de sus raíces han sido citados como proveedores de servicios ecosistémicos como la reducción de la erosión del suelo, de la pérdida de agua y nutrientes, y de la mejora de la disponibilidad de nutrientes y el secuestro de carbono (Poeplau et al. 2011, Pimentel et al. 2012; Culman et al. 2013; Crews y Brookes 2014).

Existe una enorme diversidad entre tipos de plantas perennes y de patrones de longevidad (Jones et al. 2014). En particular, entre las hierbas perennes (plantas que carecen de un tronco leñoso) se encuentran especies con un ciclo de vida largo (hasta cientos de años; García et al. 2011, Morales et al. 2013) y otras menos longevas, con un ciclo de vida más corto (unos pocos años, Koskela 2002, Hautekette 2001, González-Paleo y Ravetta, 2011). Las tasas de crecimiento y la acumulación de biomasa anual son también enormemente variables. Los atributos tales como la arquitectura radical, las reservas almacenadas, los meristemas indeterminados y los patrones de senescencia explican las diferencias encontradas en la longevidad de estas especies (Munné-Bosch 2014).

En una estrategia de vida plurianual la relación de compromiso entre la reproducción y la asignación de recursos a raíces y órganos de perpetuación genera interrogantes acerca de la posibilidad de seleccionar especies perennes con una producción comparable a la de un cultivo anual, manteniendo los beneficios de la estructura y función de un ciclo vida perenne (Vico et al. 2016). Buscando un equilibrio entre estas funciones se ha intentado desarrollar cultivos perennes productores de granos a partir de la domesticación de especies silvestres o de la hibridación de los cultivos anuales actuales con sus parientes perennes (Wagoner 1995, Davies et al. 2005, Cox et al. 2002, Dehaan y Van Tassel 2014).

Los mayores esfuerzos en el desarrollo de versiones perennes de cultivos ya establecidos se han hecho en cereales (por ejemplo, centeno, maíz, arroz y sorgo) y particularmente en mejoramiento de trigo perenne que es una opción en regiones agrícolas de secano (Wagoner 1990). Para el trigo, la domesticación y comercialización del cultivo perenne ha sido difícil, pero por ejemplo su hibridación con versiones perennes de otros cereales ha proporcionado material genético útil para la tolerancia a enfermedades, la resistencia al frío, la madurez temprana y la tolerancia a la sequía en el trigo anual (Friebe et al. 1996).

En el caso de la domesticación de hierbas anuales, estudios realizados con *Brassica oleracea*, *Helianthus annuus* y *Eruca sativa*, entre otras, revelaron que bajo presiones selectivas agrícolas se pueden generar buenos fenotipos competidores por luz en relación a sus progenitores silvestres, pero similares en términos de biomasa específica de raíz y hojas, rasgos relevantes para el uso eficiente de los recursos (Milla et al. 2014). Esto sugiere que el set de rasgos comúnmente asociados a un crecimiento rápido, con mayor adquisición de agua y radiación (a expensas de menor eficiencia en el uso de los nutrientes), que ha acompañado la domesticación de herbáceas perennes, debería extenderse e incluir rasgos de relevancia directa del fitness de la planta silvestre, como lo son la biomasa de raíz y la capacidad de almacenar reservas. Esta estrategia podría contribuir a entender como procedió la domesticación de cultivos herbáceos y cuáles son las oportunidades para volver a dirigir o enfatizar aquellas trayectorias que aumenten la integración fenotípica durante la evolución de los cultivos (Milla et al. 2014).

La multiplicidad de especies perennes candidatas para su domesticación está acompañada por una enorme variabilidad de ciclos de vida, longevidad, requerimientos y tolerancias ambientales cuyas bases anatómicas, estructurales y fisiológicas son también variables. Los atributos que les confieren tolerancia a la sequía, que mejoran la habilidad competitiva o que intervienen en el secuestro y distribución de carbono, no son iguales en todas las especies perennes, aun dentro de un mismo género (Van Tassel et al. 2014). Por ejemplo, en el sistema experimental de especies del género de *Physaria* utilizado en esta tesis y descrito en el capítulo I, resultados previos sugieren diferencias específicas entre las especies perennes, en la jerarquía de asignación de recursos (C) a una roseta viable (longevidad), a producción de semilla (rendimiento) y a las funciones de las reservas carbonadas (longevidad; González-Paleo y Ravetta 2011 a y b; Masnatta y Ravetta 2011).

Dentro de este marco general, el objetivo del presente capítulo es evaluar, en las especies perennes de mi sistema experimental, la influencia de la historia previa de acumulación de hidratos de carbono sobre cambios en la estrategia de adquisición y partición de carbono, y su asociación con la supervivencia y estabilidad del rendimiento. Se espera que la historia previa de acumulación de hidratos de carbono de reserva determine diferencias en las estrategias de adquisición y partición de carbono actual y que estas diferencias estén asociadas al grado de perennidad (Hipótesis 2).

Se predice que

Predicción 2.1:

A)-Los individuos de especies perennes con gran acumulación de hidratos de carbono de reserva en el primer ciclo de cultivo responderán a una baja disponibilidad de foto-asimilados durante el segundo ciclo de cultivo y priorizarán la asignación a almacenamiento y a estructuras de perpetuación como consecuencia de una menor asignación a caracteres productivos (biomasa, rendimiento e índice de cosecha).

B)-Los individuos de especies perennes con gran acumulación de hidratos de carbono de reserva en el primer ciclo de cultivo responderán a una mayor disponibilidad de foto-asimilados durante su segundo ciclo y priorizarán la asignación a crecimiento y a semilla sobre el almacenamiento.

Predicción 2.2:

Los individuos de especies perennes con una baja acumulación de hidratos de carbono de reserva durante el primer ciclo de crecimiento priorizarán la asignación de recursos a almacenamiento y a órganos de perpetuación a expensas de la asignación a semillas. Esta respuesta será más fuerte que los cambios producidos por diferencias en la disponibilidad actual de foto-asimilados.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1 General

Se realizó un experimento en condiciones de campo en Gaiman, Chubut, en un diseño de parcelas divididas con tres factores: PRE-TRATAMIENTO (parcela principal), TRATAMIENTO (sub-parcela) y ESPECIE (sub-sub-parcela). Se trabajó con las dos especies de ciclo de vida perenne: *Physaria mendocina* y *P. pinetorum* del sistema experimental usado en esta tesis. Su elección fue basada en que difieren en una serie de caracteres morfo-fisiológicos y en el patrón de asignación de recursos, y estas diferencias parecen estar vinculadas a su longevidad (González-Paleo y Ravetta 2011 a y b, Masnatta y Ravetta 2011).

Pre-tratamientos

A lo largo de todo el primer ciclo de cultivo se establecieron **3 pre-tratamientos de variación fuente-destino**: R₁) Remoción de botones florales (desde que las plantas estuvieron en estadio fenológico de botón floral hasta fructificación) ST₁) Sombreado, por el periodo entero del ciclo de cultivo de primer año (desde el establecimiento de las plantas, estadio de roseta hasta madurez fisiológica) y C₁) Control, plantas intactas sin remoción de estructuras reproductivas ni sombreado.

Estos pre-tratamientos tuvieron como objetivo generar grupos de plantas con diferente acumulación de hidratos de carbono y biomasa como punto de partida para la manipulación de la relación fuente-destino en el segundo año de cultivo. Una vez obtenidas estas líneas las mismas fueron sometidas durante el segundo ciclo de cultivo (2009-2010) a los 4 tratamientos de disponibilidad de fotoasimilados descritos en el experimento 1.

Tratamientos

Durante el segundo ciclo de cultivo se aplicaron **4 tratamientos fuente-destino**. Estos tratamientos fueron generados por: a) Sombreado durante la etapa vegetativa (SV₂) b) Sombreado en la etapa reproductiva (SR₂) c) Remoción de botones florales (R₂) y d) Plantas control, sin ningún tratamiento (C₂).

Diseño Experimental

Se dispusieron 15 parcelas principales de 8 m x 3 m, dentro de las cuales se aplicaron los tres tratamientos del primer ciclo (ST₁, R₁ y C₁). Dentro de cada parcela principal se asignó aleatoriamente una sub-parcela con 4 niveles (SV₂, SR₂, C₂ y R₂) y, una sub-sub-parcela por sub-parcela correspondiente a cada especie. Cada sub-sub-parcela de 1 m x 1 m tuvo un total de 10 plantas dispuestas en una estructura de 2 filas distanciadas por 0,30 m, y cada fila separada por 0,7 m entre sí. Así, en el segundo ciclo de cultivo se trabajó con 4 sub-parcelas con 2 sub-sub-parcelas de 10 plantas cada una para un total 80 plantas por Parcela principal (Figura 4.1).

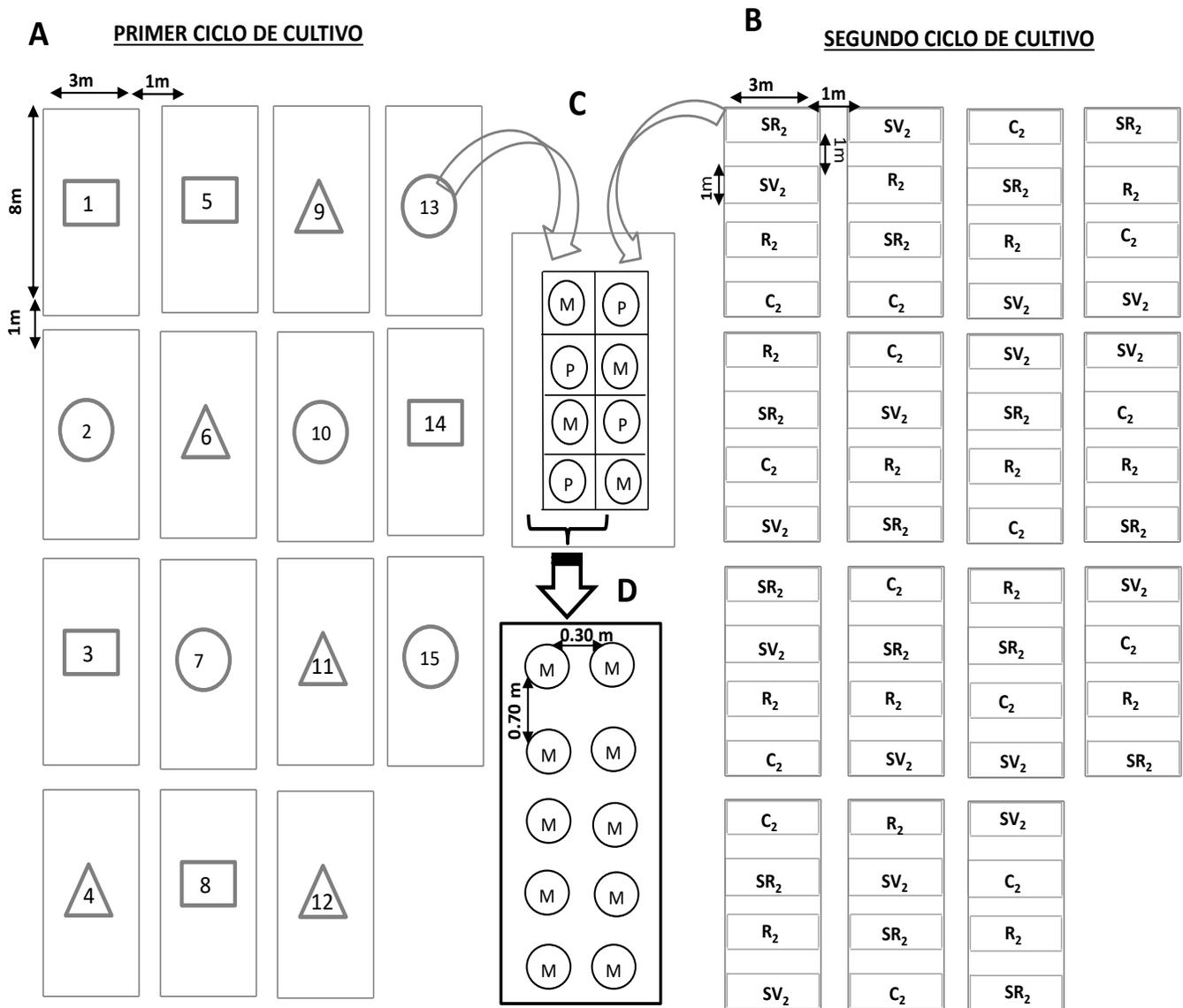


Figura 4.1: Esquema del diseño experimental. A. Muestra la disposición aleatoria y las dimensiones de las parcelas principales para el 1 ciclo de cultivo; el número de parcela se detalla dentro de las figuras. Cada Pre-tratamiento corresponde a una figura diferente; así, los círculos indican el Pre-tratamiento control (C_1), los cuadrados, el sombreado total que intercepta la radiación incidente un 65% (ST_1) y, los triángulos la remoción de yemas florales (R_1). B. Muestra, para el 2^{do} ciclo de crecimiento la disposición en las parcelas principales de las cuatro sub-parcelas. C. Muestra la disposición aleatoria de las sub-sub parcelas en cada parcela sub-parcela el 2^{do} ciclo y parcela principal el 1^{er} ciclo. Cada parcela principal contuvo 1 sub-parcela por tratamiento en su segundo ciclo de cultivo (SV_2 = sombreado vegetativo, SR_2 = sombreado reproductivo, R_2 = remoción y C_2 =control). Cada sub-parcela tuvo 1 sub-sub parcela por especie de Physaria (M: *P. mendocina*, P: *P. pinetorum*, A) con 10 plantas cada una dispuestas como se indica en la figura D. D. Muestra la estructura de una de las sub-sub parcelas, en este caso correspondiente a *Physaria mendocina* (M). Cada una de las filas, separadas por 0,3 m, contuvo 5 plantas separadas por 0,70 m.

4.2.2 Mediciones

El análisis del patrón de partición y la determinación de la concentración de reservas carbonadas se realizó de acuerdo a lo descrito en el capítulo I. En este experimento se realizaron 4 cosechas de 5 plantas por tratamiento (1 planta de cada sub-sub parcela para cada tratamiento y especie de 5 parcelas principales o repeticiones) en cada estado fenológico (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1: Cronograma de las cosechas realizadas (DDT, días desde la siembra) para los distintos momentos fenológicos en los dos ciclos de evaluación de las perennes, para *P. mendocina* y *P. pinetorum*. El número indica el número de plantas cosechadas en cada especie y Pre-tratamiento*Tratamiento. ST₁= sombreado total, R₁= remoción de yemas florales y C₁= control, plantas sin tratamiento. SV₂= sombreado vegetativo, SR₂= sombreado reproductivo, R₂= remoción y C₂= control). El SR₂ fue aplicado a floración razón por la cual este tratamiento posee 2 cosechas.

1 ciclo de cultivo		2 ciclo de cultivo				
Año 1: 2008/2009		Año 2: 2009/2010				
Pre-tratamiento	Tratamiento	Bóton floral 539 DDS	Floración 563 DDS	Fructificación 612 DDS	Madurez 658 DDS	Total
ST ₁	SV ₂	5	5	5	5	20
	SR ₂	0	0	5	5	10
	C ₂	5	5	5	5	20
	R ₂	5	5	5	5	20
C ₁	SV ₂	5	5	5	5	20
	SR ₂	0	0	5	5	10
	C ₂	5	5	5	5	20
	R ₂	5	5	5	5	20
R ₁	SV ₂	5	5	5	5	20
	SR ₂	0	0	5	5	10
	C ₂	5	5	5	5	20
	R ₂	5	5	5	5	20

Asimilación de CO₂

La tasa instantánea de asimilación de CO₂ fue medida en una hoja completamente expandida y sin signos de deterioro, en 5 plantas por especie para cada Pre-tratamiento.

Las mediciones se realizaron los días 13 y 14 de octubre del 2009 en dos momentos del día, una a las 10:00 hs de la mañana y otra a las 12:00 hs del mediodía, en el estado fenológico de floración, utilizando un analizador de gases infrarrojo portátil ADC-LCA-4 (Hoddesdon, England).

4.2.3 *Análisis estadístico*

Efecto de los pre-tratamientos

Para determinar el efecto de los Pre-tratamientos sobre la biomasa total, y la concentración de hidratos de carbono no estructurales (TNC %), el contenido total de carbohidratos no estructurales (TNC g), y la asimilación de CO₂ (A) al inicio del 2^{do} ciclo de cultivo (Estadio de roseta) se realizó un ANVA de dos factores de efecto fijos (Pre-tratamiento*especie). El factor Pre-tratamiento presentó 3 niveles: Sombreado Total, Control y Remoción. Mientras que el factor Especie tuvo dos niveles: *P. pinetorum* y *P. mendocina*.

Como la interacción ESPECIE x PRE-TRATAMIENTO no fue significativa (para ninguna de las variables) se determinó el efecto de los Pre-tratamientos para las dos especies juntas.

Para analizar el efecto de los Pre-tratamientos sobre la jerarquía de asignación de carbono (biomasa, partición, reservas) de plantas de 2 ciclos de cultivo, se realizaron comparaciones mediante un ANVA de dos factores (Pre-tratamiento*especie). Estas comparaciones fueron realizadas en estado fenológico de fructificación en plantas sometidas a los distintos Pre-tratamientos durante su primer ciclo de crecimiento y que recibieron Tratamiento control el segundo ciclo (C₂).

Para determinar la dinámica de los TNC se analizó la interacción entre especies, estadio ontogenético y pre-tratamiento, con un diseño estadístico de ANVA de medidas repetidas de tres factores (Pre-tratamiento* Estadio Ontogenético*Especie). El factor Pre-tratamiento presentó 3 niveles: Sombreado total, Control y Remoción. El estadio ontogenético presentó 4 niveles: Bóton floral, Floración, Fructificación y Madurez. Cuando los niveles de los factores presentaron interacción se realizaron comparaciones para cada especie y cada estadio ontogénético.

Efecto de la interacción Pre-tratamiento x Tratamiento

Para evaluar el efecto de los Pre-tratamientos (que generaron diferencias en la historia previa de acumulación de TNC y Biomasa, ver resultados más abajo) sobre la manipulación fuente-destino en plantas de un segundo ciclo (tratamientos) se utilizó un ANVA de 3 factores (Parcela principal: Pre-tratamiento, 3 niveles; Sub-parcelas: Tratamientos, 4 niveles y Sub-subparcela: Especie, 2 niveles). Cuando se detectó interacción significativa Pre-tratamiento*Tratamiento*Especie, se realizó para cada especie por separado un ANVA de dos factores (Pre-tratamiento*Tratamiento). En caso de detectar interacción doble significativa se realizó para cada especie un análisis unifactorial con un test de Tukey para detectar diferencias significativas entre los Tratamientos.

El análisis de la dinámica de TNC para plantas con una historia previa de reservas (Pre-tratamientos) y sometidas en su segundo ciclo a la manipulación de su relación fuente-destino, se realizó mediante un ANVA de parcelas divididas de 4 factores (Pre-tratamiento* Tratamientos* Especies*Ontogenia). Cuando se detectó interacción significativa Pre-tratamiento*Tratamiento*Especie*Ontogenia, se realizó para cada especie por separado un ANVA de tres factores (Pre-tratamiento*Tratamiento*Ontogenia). En caso de detectar interacción triple se realizó una ANVA de dos factores (Tratamiento*Ontogenia). Y en caso de detectar interacción doble significativa se realizó para cada especie un análisis unifactorial con un test de Tukey para detectar en cada especie y pre-tratamiento el efecto del tratamiento sobre la dinámica de acumulación de reservas durante la ontogenia.

Se comprobó la distribución normal y la homogeneidad de varianzas de las subpoblaciones. Con el objetivo de cumplir con los supuestos del ANVA se realizaron transformaciones de rangos para los gramos de semilla por planta y transformación de raíz cuadrada para la concentración de TNC (%).

4.3. Resultados

4.3.1 Efecto de los pre-tratamientos sobre la biomasa y las reservas.

La aplicación de los pre-tratamientos fuente-destino (remoción y sombreado) en el primer ciclo de crecimiento modificaron la asimilación de CO₂ y las plantas llegaron al segundo ciclo de cultivo con diferencias en la concentración y contenido de reservas, y en la asignación a biomasa total y a raíces (Figura 4.2). La respuesta de estos atributos a los tratamientos fue la misma para ambas especies (no se encontró interacción Pre-tratamiento*Especie, $F=2,28$ ns, $F=4,15$ ns, $F=2,31$ ns, $F=0,07$ ns, y $F=5,23$ ns, para la asimilación de CO₂, el % TNC, el contenido de TNC g, la biomasa total y la biomasa de raíz, respectivamente), por lo cual la respuesta a los tratamientos se analizó para ambas especies juntas, comparándolas con las plantas control (C₁).

Las plantas sometidas a sombreado (ST₁) durante su primer ciclo de cultivo tuvieron una disminución de la asimilación de CO₂, respuesta que fue acompañada por una menor biomasa total (Figura 4.2 A y B). En cuanto a los caracteres asociados a la perennidad, como las reservas y la biomasa de raíz, la respuesta de estos atributos al ST₁ fue diferente. Las plantas incrementaron su concentración de TNC, lo cual provocó el aumento del contenido de hidratos de carbono (TNC g), pero la biomasa de raíz no difirió de la del control (Figura 4.2, C, D y F).

Por el contrario, las plantas sometidas a remoción de yemas florales durante su primer ciclo (R₁), tuvieron un aumento de la biomasa acumulada y una disminución de la concentración y contenido de hidratos de carbono (TNC % y TNC g). Aunque no hubo cambios en la asimilación de CO₂ ni en la biomasa de raíz respecto del tratamiento Control (Figura 4.2).

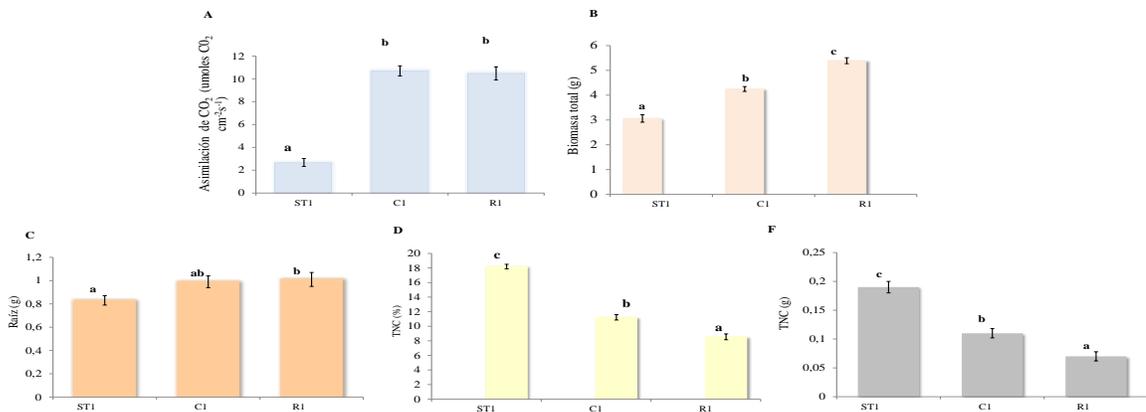


Figura 4.2: Efecto de los pre-tratamientos fuente-destino sobre: A) la asimilación ($\mu\text{moles CO}_2 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) B) la biomasa total (g), C) la biomasa de raíz (g), D) la concentración de hidratos de carbono no estructurales en raíces (TNC %) y E) el contenido total de hidratos de carbono no estructurales en raíces (TNC g) en dos especies de *Physaria*. Los datos para las dos especies fueron agrupados dado que las respuestas a los pre-tratamientos no difirieron entre ellas (interacción especie*Pre-tratamiento no significativa). ST₁: sombreado total, C₁: control y R₁: remoción de yemas florales, el primer ciclo de cultivo. Los valores representan las medias \pm E.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre pre-tratamientos.

4.3.2 Efecto de la historia previa de acumulación de reservas (pre-tratamientos), en la jerarquía de asignación de carbono en el segundo ciclo de cultivo.

No hubo diferencias entre ambas especies en sus respuestas, al finalizar el segundo ciclo de cultivo (medido en estadio de fructificación), en: la biomasa total, el índice de cosecha (IC), la producción de semilla, la biomasa asignada a raíz, la proporción de hidratos de carbono (TNC%) y el contenido de hidratos de carbono de reserva en raíces (TNC g) interacción Pre-tratamiento*Especie (no significativa $F=3,34$ ns, $F=2,64$ ns, $F=1,91$ ns, $F=0,76$ ns y $F=1,71$ ns para la biomasa, el IC, el rendimiento, la biomasa de raíz, los TNC % y el contenido de reservas TNC g, respectivamente). Por esta razón se realizó un ANVA de un factor para las dos especies en conjunto. Las plantas concluyeron su segundo ciclo manteniendo las diferencias en la biomasa logradas con los Pre-tratamientos al finalizar el primer ciclo: menor biomasa por efecto del Pre-tratamiento sombreado total (ST_1) y mayor biomasa por efecto del Pre-tratamiento de remoción (R_1 , Cuadro 4.2).

La menor biomasa por efecto del Pre-tratamiento ST_1 fue acompañada por una menor asignación proporcional a semilla (menor IC) en relación a las plantas control. La combinación de menor biomasa y menor IC estuvo acompañada por un menor rendimiento de semilla (Cuadro 4.2). En cuanto a los caracteres asociados a la perennidad, el ST_1 durante el primer ciclo de cultivo provocó un aumento en la asignación a raíz en plantas del segundo ciclo. Las diferencias en la concentración de reservas carbonadas (TNC %) logradas al finalizar el primer ciclo se amortiguaron durante el segundo ciclo: las plantas del Pretratamiento ST_1 , no mostraron diferencias en relación a las plantas del Pre-tratamiento control (C_1) al finalizar su segundo ciclo (Cuadro 4.2). La remoción de primordios florales durante el primer ciclo de cultivo (Pre-tratamiento R_1) provocó un incremento del rendimiento de semilla durante el segundo ciclo debido al aumento de la biomasa, ya que el IC no difirió del de las plantas del Pre-tratamiento C_1 (Cuadro 4.2). Por su parte, las diferencias en la asignación a reservas (TNC) logradas durante el primer ciclo de cultivo con el Pretratamiento R_1 y la asignación a raíces fueron amortiguadas ya que no se encontraron diferencias entre las plantas del Pretratamiento R_1 en relación a las plantas control al finalizar el segundo ciclo.

La producción de biomasa durante el primer ciclo fue en gran medida responsable de la productividad de las plantas durante el segundo ciclo de crecimiento mientras que las diferencias en la acumulación de reservas se atenuaron durante el segundo ciclo lo cual indica diferencias en el uso del C proveniente de diferentes fuentes (Fotosíntesis actual versus Reservas), en plantas que difieren en su historia previa de almacenamiento (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2: Efecto de los Pre-tratamientos aplicados el primer ciclo de cultivo sobre la biomasa y su partición, para el tratamiento control del segundo ciclo de cultivo. ST₁: sombreado total, C₁: pre-tratamiento control y R₁: remoción de yemas florales C₂: tratamiento control del segundo ciclo. Los valores representan las medias \pm E.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre pre-tratamientos de acuerdo al ANOVA (Valor del estadístico F). * p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001, gl error = 27, N= 30.

Historia previa de reservas	Biomasa total (g)	Rendimiento (g semilla*pl ⁻¹)	Índice de cosecha (IC %)	Raíz (g)	TNC (% peso seco de la raíz)
ST ₁ -C ₂	10,42 \pm 0,33 a	1,19 \pm 0,06 a	11,39 \pm 0,37 a	2,39 \pm 0,22 b	13,58 \pm 0,85 a
C ₁ -C ₂	17,21 \pm 0,35 b	2,97 \pm 0,24 b	17,2 \pm 1,29 b	1,53 \pm 0,12 a	13,93 \pm 0,51 a
R ₁ -C ₂	20,55 \pm 0,86 c	3,69 \pm 0,2 c	18,5 \pm 1,10 b	1,83 \pm 0,15 ab	12,74 \pm 0,63 a
Valor F	81,6***	48,81***	13,26***	6,83**	0,74 ns

La estrategia de las plantas fue: A) en el caso de iniciar el segundo ciclo con baja concentración de reservas (R₁), recomponerlas y finalizar su segundo ciclo de cultivo con las mismas reservas que las plantas Control y, B) cuando las plantas iniciaron su segundo ciclo con más reservas que las plantas Control (ST₁), la estrategia fue utilizar el excedente almacenado durante el primer ciclo. Por este motivo se analizó la evolución de la concentración de hidratos de carbono no estructurales (TNC %) durante la ontogenia y se determinaron, así, los momentos en los cuales las plantas hicieron uso o recompusieron sus reservas carbonadas.

Se encontró interacción significativa entre los tres factores evaluados: Especie*Pre-tratamiento *Ontogenia (F= 16,90***). A su vez, para cada especie se encontró interacción significativa Pre-tratamiento*Ontogenia (F= 6,74** y F= 33,88** para *P. mendocina* y *P. pinetorum*, respectivamente). Estos resultados del ANVA determinaron la necesidad de analizar las diferencias en el contenido de TNC entre plantas con diferente historia previa de acumulación (Pre-tratamientos), por separado para cada especie y cada estadio ontogenético del segundo ciclo.

Sin bien las reservas de ambas especies al inicio del segundo ciclo presentaron un comportamiento similar, a medida que se avanzó en el segundo ciclo de cultivo se observó que la dinámica de los TNC difirió entre especies, especialmente luego de iniciada la etapa reproductiva. Para las plantas provenientes del Pre-tratamiento ST₁, se observó (Figura 4.3 A y B) una caída en las reservas en la floración para *P. pinetorum* (F_{ontogenia}= 14,58**) y durante la fructificación en *P. mendocina* (F_{ontogenia}= 24,17**). Esta disminución en el porcentaje de TNC determinó que no se encontraran diferencias con las plantas del Pre-tratamiento control (C₁, Figuras 4.3 A y B). Sin embargo, al alcanzarse la madurez las plantas del Pre-tratamiento ST₁ recuperaron los concentraciones iniciales de TNC y así reaparecieron las diferencias iniciales en relación a las plantas del Pre-tratamiento Control (Figura 4.3 A y B).

Por su parte, las plantas del Pre-tratamiento R₁ de *P. mendocina*, recuperaron el porcentaje de TNC hacia el estadio de fructificación del segundo ciclo, momento en el cual no se encontraron diferencias con las plantas del Pre-tratamiento control ($F_{\text{ontogenia}} = 6,11$ ns). Una vez que lograron amortiguar el menor porcentaje de reservas con el que iniciaron su segundo ciclo, las reservas se mantuvieron en valores similares a las de las plantas de pretratamiento control hasta la madurez del segundo año. En *P. pinetorum* se encontró una dinámica similar, con el punto máximo de recuperación de las reservas en el estadio de floración ($F_{\text{ontogenia}} = 18,23^*$).

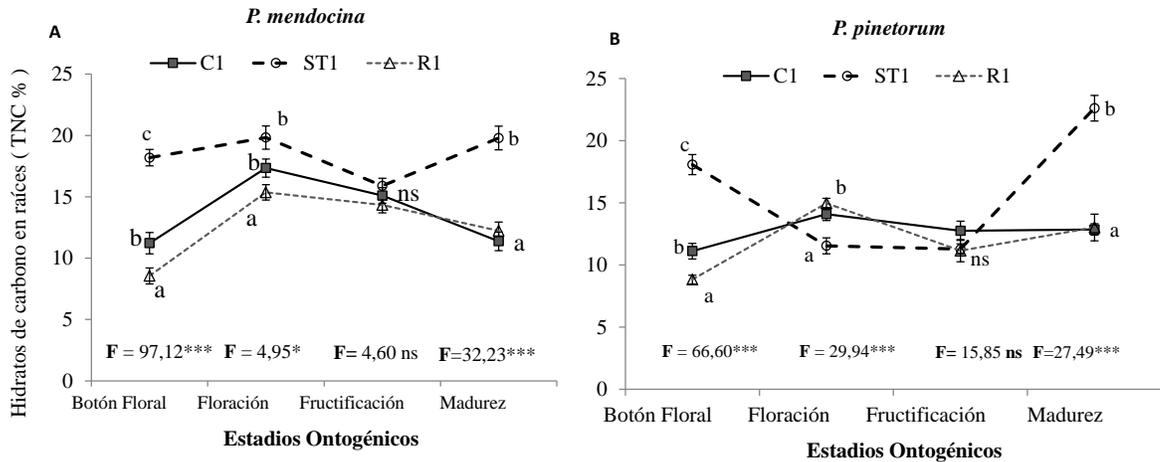


Figura 4.3: Efecto de los pre-tratamientos fuente-destino aplicados durante el primer ciclo del cultivo sobre la concentración de hidratos de carbono en raíces (TNC %) medidos en cuatro estadios ontogénicos a lo largo del 2^{do} ciclo de cultivo: botón floral, floración, fructificación y madurez para A) *P. mendocina* y B) *P. pinetorum*. ST₁: sombreado total, C₁: control y R₁: remoción de yemas florales; todos aplicados durante el primer año. Los valores representan las medias \pm E.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre Pre-tratamientos para un mismo estado ontogénico de acuerdo al ANOVA. Los F por encima de cada estado ontogénico testean la significancia de las diferencias entre pre-tratamientos para cada uno de los estados. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, gl error= 12, N= 15. Los F del efecto del tiempo se presentan en el texto.

4.3.3 Influencia de la historia previa de acumulación de reservas (Pre-tratamientos) sobre la producción, frente a diferencias en la relación fuente-destino en el segundo ciclo de cultivo.

Al analizar la influencia de la historia previa de acumulación de reservas, se observó que la interacción Pre-tratamiento*Tratamiento*Especie fue significativa para todas las variables evaluadas ($F = 13,48^{***}$, $F = 5,53^{***}$, $F = 7,58^{***}$, para la biomasa total, el índice de cosecha y el rendimiento, respectivamente).

A)-Efecto de la historia previa de acumulación en la respuesta a la reducción de la fuente durante el segundo ciclo (SV₂).

Las plantas de ambas especies que iniciaron su segundo ciclo de cultivo con contenidos normales de TNC (Pre-tratamiento control, C₁) respondieron frente a la limitación de la radiación en el período vegetativo (SV₂) con una disminución de la biomasa total acumulada, comparada con la biomasa total de las plantas del tratamiento control-C₂ (Cuadro

4.3 A y B). Esta disminución de la biomasa se acompañó en *P. mendocina* con una disminución en la asignación a semilla (IC) y en el rendimiento, mientras que para *P. pinetorum* el aumento en el IC en condiciones de sombreado redundó en un rendimiento similar al de las plantas C₂ (Cuadro 4.3 A y B). La restricción de la irradiancia en el período reproductivo del segundo ciclo (tratamiento de SR₂) tuvo efecto sólo para *P. pinetorum*, en la cual la biomasa total y el rendimiento fueron menores (cuando se la comparó con el tratamiento control; C₂ Cuadro 4.3 B).

La respuesta de ambas especies al sombreado durante el segundo ciclo de cultivo fue similar para las plantas que finalizaron su primer ciclo con mayor acumulación de reservas carbonadas (Pre-tratamiento ST₁). Los tratamientos de sombreado aplicados en el segundo ciclo (SV₂, SR₂), provocaron en ambas especies respuestas similares en la biomasa, el rendimiento y el IC, comparadas con las plantas del tratamiento control-C₂, (Cuadro 4.3 A y B). Sin embargo, comparadas con las plantas testigo C₁+C₂ (Pre-tratamiento C₁- Tratamiento C₂), la reducción de la fuente (ST₁-SV₂; ST₁-SR₂) presentó las mismas diferencias en las dos especies, las cuales estuvieron vinculadas al momento en que ocurrió el sombreado durante el segundo ciclo de cultivo. Así, mientras que el SR₂, no provocó cambios en los caracteres productivos, el SV₂ al finalizar el segundo ciclo produjo una disminución de la biomasa total, el rendimiento y la asignación a semilla (IC, Figura 4.4 A y B) para las dos especies. Esto indicaría que en las dos especies, que tanto el rendimiento de semilla, como los caracteres que lo determinan, biomasa total e índice de cosecha, no fueron la prioridad de asignación de carbono durante el segundo ciclo. Por otra parte, la reducción de la biomasa total producto del Pre-tratamiento ST₁ tampoco pudo ser amortiguada durante el 2^{do} ciclo con el tratamiento de sombreado vegetativo. Esto apoyaría la importancia de la acumulación de reservas previas (Pre-tratamiento-ST₁) en la jerarquía de asignación de carbono hacia la asignación de biomasa, semilla (IC) y rendimiento el segundo ciclo y su relativa independencia de la disponibilidad de asimilados actual.

Por su parte, la respuesta de las especies al Pre-tratamiento R₁ y a un segundo ciclo de crecimiento con baja irradiancia (SV₂, SR₂) dependió de la especie y del momento de sombreado. *P. mendocina* no evidenció cambios en la biomasa total, el IC y el rendimiento frente a la restricción de radiación en etapa vegetativa (SV₂) ni en etapa reproductiva (SR₂, Cuadro 4.3A y B). *P. pinetorum*, al igual que *P. mendocina*, tampoco presentó cambios en su biomasa total, el IC y el rendimiento ante el sombreado durante la etapa vegetativa (SV₂, Cuadro 4.3A y B), pero cuando la restricción de la radiación ocurrió en la etapa reproductiva (SR₂) presentó una disminución de la biomasa total y de la asignación a semilla, lo que redundó en una disminución del rendimiento, comparadas con las plantas C₂ (Cuadro 4.3 B).

De igual forma cuando la comparación del rendimiento, la biomasa y el IC de estas plantas (Pre-tratamiento R₁. Tratamientos SV₂, SR₂) se realizó con las plantas testigo (C₁+C₂), muestra que las respuestas de estos caracteres dependió de la especie. Mientras que en *P. mendocina* la biomasa total, el IC y el rendimiento fueron similares a los de las plantas testigo C₁+C₂ (Figura 4.4 A), en *P. pinetorum* el SV₂ provocó un incremento del IC y del rendimiento y el SR₂ una disminución de ambos caracteres (en relación a las plantas testigo C₁+C₂, Figura 4.4 B). Es decir que en *P. pinetorum* se encontró una respuesta sobrecompensatoria con SV₂, pero no con SR₂ que generó un costo en la productividad, en relación a las plantas Control, C₁+C₂ (Figura 4.4 B).

B)-Efecto de la historia previa de acumulación en la respuesta a la reducción de los destinos (R₂) durante el segundo ciclo.

El tratamiento de remoción del segundo año (R₂) tuvo efectos poco marcados sobre las plantas con diferente historia previa de reservas y biomasa (ST₁, C₁, R₁, Cuadros 4.3 A y B). La excepción a este patrón fue, en *P. mendocina*, el incremento de la biomasa y el rendimiento para el Tratamiento R₂ en plantas provenientes del Pre-tratamiento C₁, y un incremento de la biomasa para ST₁-R₂ y para R₁-R₂ (en relación a las plantas C₁, Cuadro 4.3 A). Mientras que en *P. pinetorum* se encontró sólo un incremento en la asignación a semilla (IC) para ST₁-R₂. Sin embargo, pese a estas respuestas de los caracteres productivos al tratamiento de remoción (R₂), durante el segundo ciclo las plantas de ambas especies con una historia previa de mayor acumulación de reservas debido al pre-tratamiento de sombreado (ST₁) mostraron una menor biomasa, IC y rendimiento en relación a las plantas testigo (C₁+C₂, Figura 4.4 A y B). Por su parte, cuando iniciaron con menores reservas (R₁) tuvieron una mayor acumulación de biomasa y mayor rendimiento comparados con las plantas testigo (C₁+C₂, Figura 4.4 A y B).

Cuadro 4.3 A: Efecto de la historia previa de reservas carbonadas (Pre-tratamientos) en plantas de *P. mendocina* sometidas a cambios en la relación fuente destino del 2^{do} ciclo (Tratamientos), sobre caracteres asociados a la productividad (biomasa total, rendimiento e índice de cosecha). Pre-tratamientos del ciclo 1: ST₁: sombreado en todo el ciclo, C₁: control, R₁: remoción de yemas florales. Tratamientos del ciclo 2: SV₂: sombreado vegetativo, SR₂: sombreado reproductivo, C₂: control y R₂: remoción de yemas florales. Los valores representan las medias ± E.E. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo pre-tratamiento de acuerdo al ANOVA (Valor del estadístico F). * p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001, gl_{error} = 48, N= 60.

PRE-TRATAMIENTOS	BIOMASA TOTAL (g)				Valor F	RENDIMIENTO (g*semillas*pl ⁻¹)				Valor F	ÍNDICE DE COSECHA (IC, % biomasa total)				Valor F
	SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂		SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂		SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂	
ST ₁	9,74 ± 0,6 a	9,63 ± 0,66 a	10,69 ± 0,58 a	12,36 ± 0,75 b	8,28 **	0,82 ± 0,14 a	1,17 ± 0,13 a	1,21 ± 0,1 a	1,13 ± 0,15 a	3,09 ns	8,52 ± 0,83 a	12,2 ± 1,13 b	11,28 ± 0,51 ab	9,12 ± 0,77 ab	4,39*
C ₁	11,69 ± 0,72 a	16,91 ± 1,1 b	17,51 ± 0,87 b	30,09 ± 0,32 c	65,93***	1,51 ± 0,12 a	2,96 ± 0,26 b	3,43 ± 0,31 b	5,08 ± 0,22 b	38,23 ***	12,85 ± 0,46 a	17,78 ± 2,09 ab	19,61 ± 1,22 b	16,96 ± 0,81 ab	4,08*
R ₁	17,15 ± 0,61 a	18,14 ± 0,96 a	19,16 ± 0,68 a	23,82 ± 1,07 b	11,28 ***	3,15 ± 0,3 a	3,82 ± 0,31 a	3,64 ± 0,39 a	3,51 ± 0,22 a	4,14 ns	18,19 ± 1,13 a	21,11 ± 1,37 a	18,05 ± 1,57 a	23,13 ± 0,87 a	2,51 ns

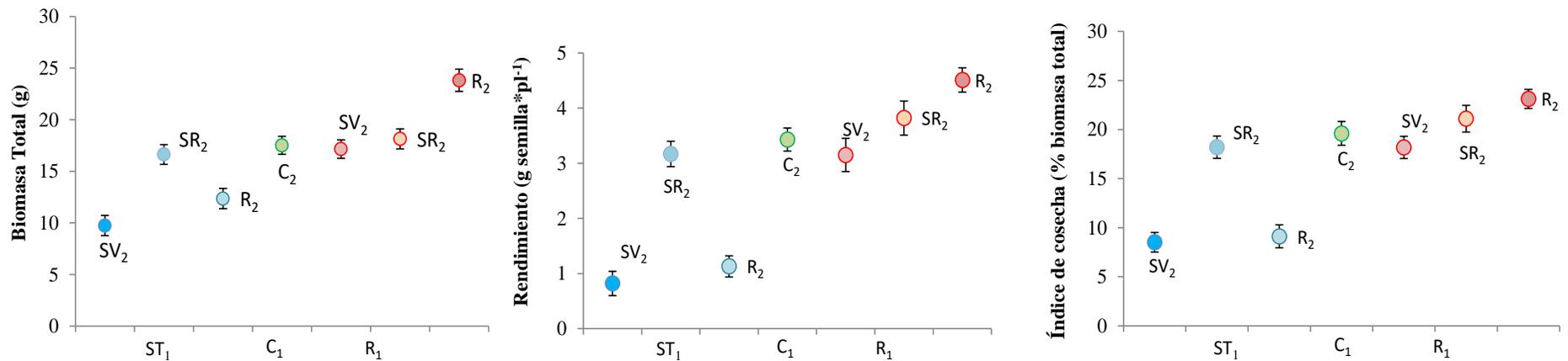


Figura 4.4 A: Biomasa total, índice de cosecha (IC) y rendimiento en plantas de *P. mendocina* con distinta historia previa de reservas carbonadas (Pre-tratamientos: ST₁: sombreado, y R₁: remoción, aplicados el primer ciclo de cultivo eje x), sometidas a cambios en la relación fuente destino el 2^{do} ciclo de cultivo (Tratamientos; rótulo sobre el punto), en relación a las plantas no tratadas C₁+C₂. Los valores representan las medias ± E.E. SV₂: sombreado vegetativo, SR₂: sombreado reproductivo, C₂: control y R₂: remoción de yemas florales, el segundo ciclo de cultivo.

Cuadro 4.3 B: Efecto de la historia previa de reservas carbonadas (Pre-tratamientos) en plantas de *P. pinetorum* sometidas a cambios en la relación fuente destino del 2^{do} ciclo (Tratamientos), sobre caracteres asociados a la productividad (biomasa total, rendimiento e índice de cosecha). Pre-tratamientos del ciclo 1: ST₁: sombreado en todo el ciclo, C₁: control, R₁: remoción de yemas florales. Tratamientos del ciclo 2: SV₂: sombreado vegetativo, SR₂: sombreado reproductivo, C₂: control y R₂: remoción de yemas florales. Los valores representan las medias ± E.E. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo pre-tratamiento de acuerdo al ANOVA (Valor del estadístico F). * p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001, gl error = 48, N= 60.

PRE-TRATAMIENTOS	TRATAMIENTOS FUENTE-DESTINO														
	BIOMASA TOTAL (g)					RENDIMIENTO (g*semillas*pl ⁻¹)					ÍNDICE DE COSECHA (IC, % biomasa total)				
	SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂	Valor F	SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂	Valor F	SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂	Valor F
ST ₁	9,59 ± 0,86 b	7,08 ± 0,67 a	10,16 ± 0,36 bc	11,45 ± 0,71 c	19,15***	0,88 ± 0,14 a	0,74 ± 0,11 a	1,17 ± 0,07 a	1,24 ± 0,16 a	3,63ns	9,15 ± 0,91 a	10,38 ± 0,79 a	11,5 ± 0,59 a	13,8 ± 1,03 b	6,55**
C ₁	10,48 ± 0,53 a	13,15 ± 0,85 b	16,91 ± 0,93 c	17,45 ± 0,32 c	32,51***	2,51 ± 0,26 b	1,28 ± 0,12 a	2,51 ± 0,18 b	2,82 ± 0,3 b	7,79*	23,75 ± 1,02 c	9,77 ± 0,87 a	14,78 ± 1,19 ab	16,28 ± 2,06 b	16,06***
R ₁	18,55 ± 1,15 b	10,46 ± 1,21 a	21,94 ± 1,39 b	26,36 ± 1,47 c	28,01***	4,08 ± 0,22 b	1,18 ± 0,16 a	3,75 ± 0,17 b	4,08 ± 0,22 b	45,12***	22,21 ± 0,96 c	11,23 ± 1,53 a	17,45 ± 1,66 bc	15,6 ± 0,95 ab	9,39***

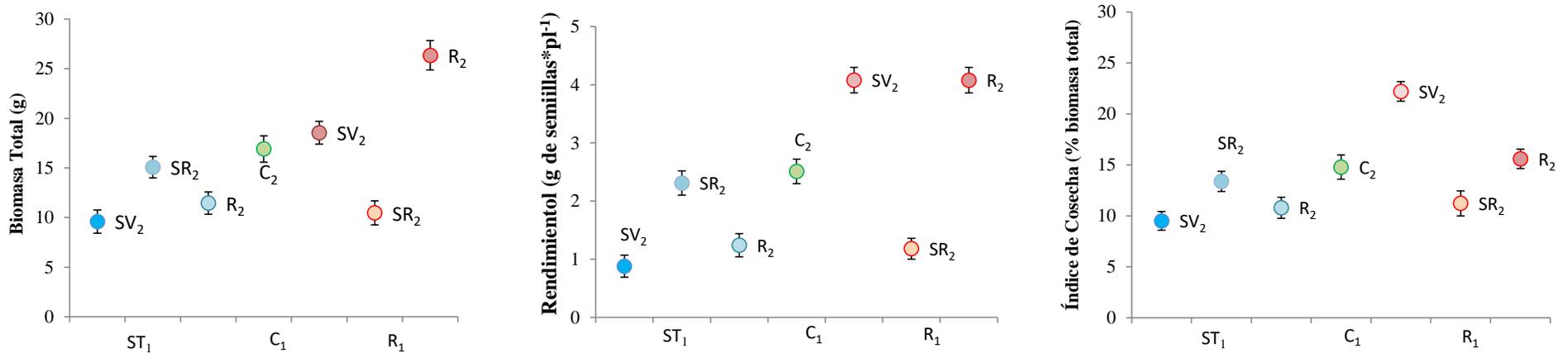


Figura 4.4 B: Biomasa total, índice de cosecha (IC) y rendimiento, en plantas de *P. pinetorum* con distinta historia previa de reservas carbonadas (Pre-tratamientos: ST₁: sombreado, y R₁: remoción, aplicados el primer ciclo de cultivo eje x), sometidas a cambios en la relación fuente destino el 2^{do} ciclo de cultivo (Tratamientos; rótulo sobre el punto), en relación a las plantas no tratadas C₁+C₂. Los valores representan las medias ± E.E. SV₂: sombreado vegetativo, SR₂: sombreado reproductivo, C₂: control y R₂: remoción de yemas florales, el segundo ciclo de cultivo.

4.3.4 Influencia de la historia previa sobre el patrón ontogenético de acumulación y uso de las reservas durante el segundo ciclo de crecimiento.

Debido a que la dinámica de acumulación y uso de las reservas difirió entre plantas provenientes de los diferentes Pre-tratamientos (Figura 4.3), se analizó el efecto de la historia previa de acumulación (Pre-tratamientos) sobre la respuesta a la variación fuente-destino actual a lo largo de la ontogenia. Se encontró interacción significativa entre Pre-tratamiento, Tratamiento, Especie * Ontogenia ($F_{14, 336} = 18,05^{***}$). A su vez, para cada especie se encontró interacción significativa Pre-tratamiento, Tratamiento*Ontogenia ($F_{6, 336} = 3,25^{***}$ y $F_{6, 336} = 19,63^{***}$ para *P. mendocina* y *P. pinetorum*, respectivamente). Estos resultados del ANVA determinaron la necesidad de analizar para cada especie y pre-tratamiento el efecto del tratamiento sobre la dinámica de acumulación de reservas durante la ontogenia.

A)-Influencia de la historia previa sobre la respuesta a la reducción de la fuente (SV₂-SR₂) durante el segundo ciclo de cultivo.

1. Plantas Control (Pre-tratamiento C₁)

Para ambas especies, las plantas no tratadas (C₁+C₂), Pre-tratamiento-Tratamiento: control, presentaron durante su segundo ciclo, un pico de acumulación de reservas en el estadio de floración (*P. mendocina* acumuló un 55% más de lo tenía al inicio del ciclo, mientras que *P. pinetorum* un 27% más). Estas reservas fueron utilizadas en madurez, y las plantas finalizaron el segundo ciclo con porcentajes similares a los encontrados al inicio del ciclo (Botón floral, Figura 4.5, A y B).

La dinámica del contenido de TNC fue similar cuando las plantas C₁ fueron sombreadas durante el período vegetativo (SV₂); ambas especies presentaron un máximo de acumulación de hidratos de carbono de reserva hacia la floración (106% y 98 %, respecto del contenido al inicio del segundo ciclo para *P. mendocina* y *P. pinetorum*, respectivamente) (Figura 4.5, A y B). Las reservas disminuyeron hacia la fructificación y se igualaron a las de las plantas C₂, aunque luego de la fructificación volvieron a recuperarse por sobre las plantas C₂ (Figura 4.5, A y B). La restricción de la irradiancia en el período reproductivo (SR₂) generó hasta el estadio de floración en ambas especies la misma dinámica que las plantas C₂; sin embargo, hacia el estadio de fructificación las reservas disminuyeron recuperando dichas reservas en el período de madurez y para *P. mendocina* con valores mayores a las plantas testigo (C₂, Figura 4.5, A y B).

2. Plantas con mayores reservas que las C₁ (Pre-tratamiento ST₁)

La dinámica de acumulación de hidratos de carbono de plantas que iniciaron el segundo ciclo con alto contenido porcentual de reservas (Pre-tratamiento ST₁-Tratamiento C₂) dependió de la especie. Así *P. mendocina* mantuvo el porcentaje de TNC a lo largo de la ontogenia, con una leve disminución en fructificación (Figura 4.5, C). En *P. pinetorum* las reservas disminuyeron significativamente durante la floración y la fructificación, para luego recuperarse y llegar a madurez con valores mayores a los del final del primer ciclo (Figura 4.5, D). El sombreado vegetativo (SV₂) generó un aumento del porcentaje de TNC hacia floración, respecto del de las plantas Control (C₂; Figura 4.5, C y D). Este aumento se mantuvo hasta la madurez en *P. mendocina* y disminuyó en *P. pinetorum* (Figura 4.5 C y D). Por su parte, la restricción de la radiación en el periodo reproductivo (SR₂) generó en ambas especies una dinámica similar a la del tratamiento Control, aunque finalizaron el ciclo con un menor porcentaje de reservas (Figura 4.5.1, C y D).

3. Plantas con menores reservas que las C₁ (Pre-tratamiento R₁)

En las plantas que comenzaron su segundo ciclo con bajas reservas (Pre-tratamiento R₁), también se observó un pico de acumulación en el período de floración (61% y 52%, para *P. mendocina* y *P. pinetorum*, respectivamente), respecto del contenido inicial del ciclo 2, que se mantuvo hasta el final del ciclo en *P. pinetorum* y disminuyó en *P. mendocina* (Figura 4.5, E y F, tratamiento C₂). Para ambas especies el efecto del SV₂, fue similar a las plantas del tratamiento control hasta fructificación y resultó en una mayor acumulación de reservas en el período de madurez (Figura 4.5 E y F). Por su parte, el sombreado aplicado en la etapa reproductiva (SR₂) no alteró la dinámica de acumulación de carbono en ambas especies en relación al tratamiento control (Figura 4.5 E y F).

B)-Influencia de la historia previa sobre la respuesta a la reducción de los destinos (R₂) durante el segundo ciclo de cultivo.

1. Plantas Control (Pre-tratamiento C₁).

Las reservas de las plantas de *P. mendocina* que recibieron el tratamiento de remoción aplicado el segundo ciclo (R₂) disminuyeron respecto de las plantas control (C₂) hasta la fructificación. Las reservas se recuperaron hacia madurez y se observó un porcentaje de TNC mayor que de las plantas Control (Figura 4.5 A y B). Por su parte la dinámica de las reservas de las plantas R₂ de *P. pinetorum*, no difirió de las Control, salvo en el estado de madurez (Figura 4.5 B).

2. Plantas con mayores reservas que las C₁ (Pre-tratamiento ST₁)

Las plantas de *P. mendocina* provenientes del Pre-tratamiento ST₁ respondieron al tratamiento de remoción de botones florales (R₂) con una disminución de las reservas en floración, en relación a las de las plantas control (C₂), y recuperaron sus reservas hacia fructificación (Figura 4.5, C). Las reservas de *P. pinetorum* no difirieron entre las plantas R₂ y C₂ hasta fructificación (Figura 4.5 D). El efecto del tratamiento de remoción fue evidente al final del ciclo, cuando se vio una menor acumulación de reservas en ambas especies en relación a las plantas del tratamiento control (Figura 4.5, C y D).

3. Plantas con menores reservas que las C₁ (Pre-tratamiento R₁)

Las plantas de *P. mendocina* con bajas reservas iniciales (Pre-tratamiento R₁) y sometidas al tratamiento de remoción el segundo ciclo (R₂) mostraron un incremento en la acumulación de reservas en el periodo de fructificación (13%, respecto del contenido al inicio de la floración del segundo ciclo) que se mantuvo hasta el final del ciclo respecto de las plantas control (Figura 4.5 E). Por su parte *P. pinetorum* mostro un punto máximo de acumulación de reservas (138%) durante el período de floración y una disminución hacia el final del ciclo (Figura 4.5.E).

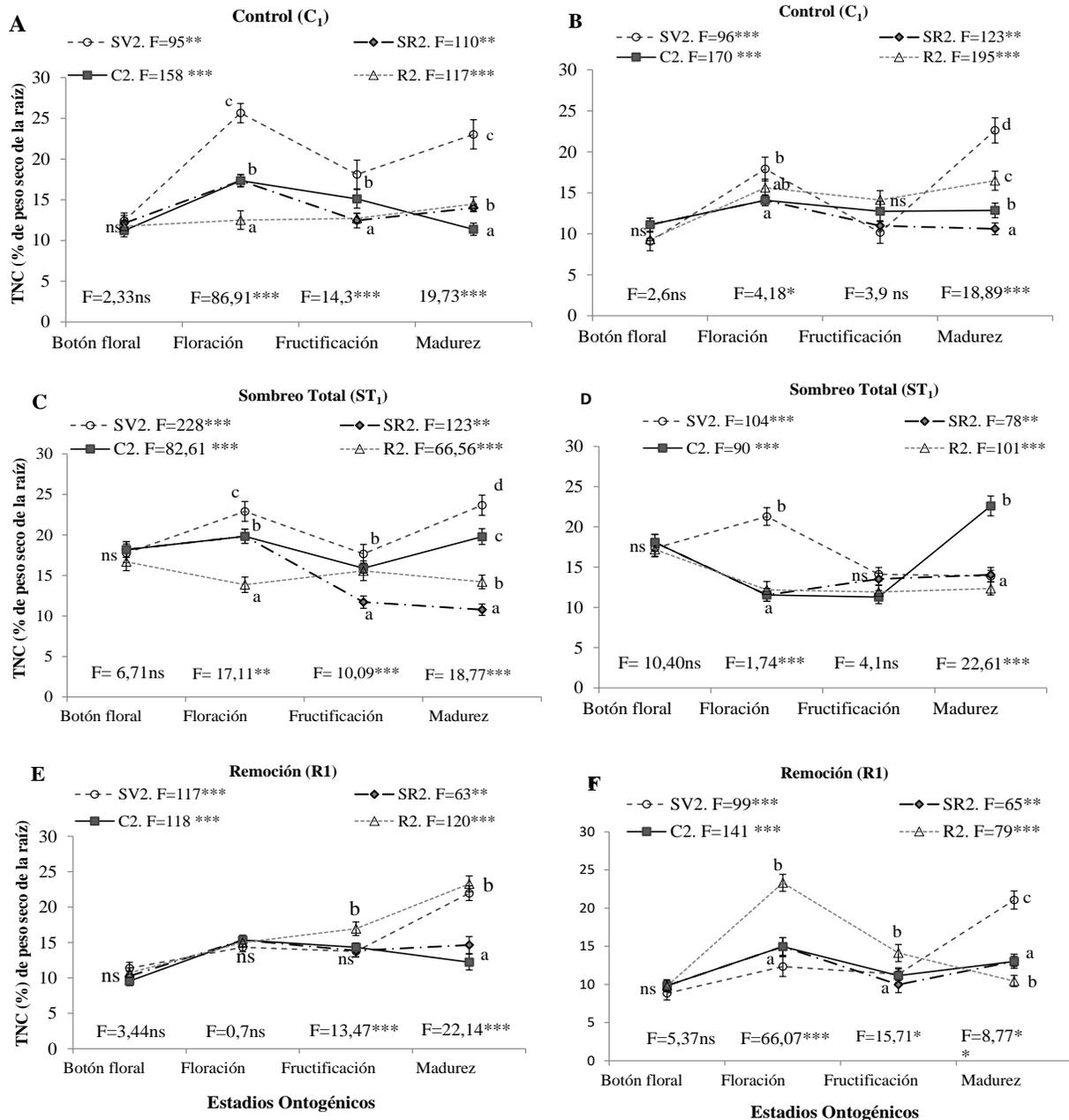


Figura 4.5: Dinámica de la concentración de TNC (TNC%), en plantas de *P. mendocina* (A, C y E) y *P. pinetorum* (B, D y F), medidos a lo largo de la ontogenia (botón floral, floración, fructificación y madurez) del 2^{do} ciclo de cultivo, en plantas pre-tratadas durante su 1^{er} ciclo, y sometidas el 2^{do} ciclo a tratamientos fuente-destino. SV₂: sombreado vegetativo, SR₂: sombreado reproductivo, C₂: control del 2^{do} año y R₂: remoción del 2^{do} ciclo. Los valores representan las medias ± E.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo estado ontogénico de acuerdo al ANOVA. Los F por encima de cada estado ontogénico testean la significancia de las diferencias entre tratamientos para cada uno de los estados. Los F en la leyenda indican diferencias entre tratamientos a lo largo de la ontogenia (efecto del tiempo). * p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001, gl error = 16, N= 20.

4.3.4.1 Proxi de perennidad.

Al analizar el contenido de hidratos de carbono (TNC g) y la biomasa de raíz, se encontró significativa la interacción Pre-tratamiento*Tratamiento*Especie para ambos caracteres ($F=6,7^{***}$, $F=2,92^*$ para el contenido de TNC y la biomasa de raíz, respectivamente). A su vez, para cada especie se encontró interacción significativa Pre-tratamiento*Tratamiento para el contenido de reservas ($F= 6,88^*$ y $F= 8,7^{***}$ para *P. mendocina* y *P. pinetorum* respectivamente) y para la biomasa de raíz ($F= 4,37^{**}$ y $F=7,44^*$ para *P. mendocina* y *P. pinetorum* respectivamente). Estos resultados determinaron la necesidad de analizar las diferencias en las reservas y la biomasa de raíz para cada especie y para plantas con diferente historia previa (Pre-tratamientos) y cada Tratamiento aplicado el segundo ciclo de cultivo.

1. Efecto de la historia previa a la reducción de la fuente durante el segundo ciclo (SV_2 y SR_2).

1.1 Plantas Control (C_1).

La respuesta al sombreado en el segundo ciclo fue similar para ambas especies. Las plantas que iniciaron su segundo ciclo de cultivo con contenidos normales de TNC (Pre-tratamiento C_1) mostraron frente al SV_2 un aumento del contenido total de reservas (TNC g) mientras que la biomasa de raíz no difirió en relación a las plantas del tratamiento Control (C_2 ; Cuadro 4.4).

La respuesta difirió entre especies cuando la limitación de fuente se produjo durante el período reproductivo (SR_2). En *P. mendocina* el SR_2 provocó el mismo efecto que el SV_2 : un aumento del contenido total de reservas, aunque no se encontraron cambios en la biomasa de raíz, en relación a las plantas control. Sin embargo, en *P. pinetorum* el tratamiento (SR_2) provocó el efecto opuesto: un aumento de la biomasa de raíz y una disminución del contenido de reservas en comparación con las plantas C_2 (Cuadro 4.4).

1.2 Plantas con mayores reservas que las C_1 (Pre-tratamiento ST_1)

La respuesta a los Tratamientos de sombreados (SV_2 , SR_2) aplicados durante el segundo ciclo de cultivo a plantas que finalizaron su primer ciclo con mayor acumulación de reservas carbonadas (Pre-tratamiento ST_1) difirió entre especies. Para *P. pinetorum* el efecto del sombreado dependió del momento de aplicación. Así con SV_2 las plantas no presentaron cambios mientras que con SR_2 disminuyeron su biomasa de raíz en relación a las plantas Control (C_2). Sin embargo, el contenido de reservas disminuyó con ambos tratamientos las plantas sombreadas (SV_2 y SR_2) respecto de las plantas Control (Cuadro 4.4). La respuesta al sombreado no fue tan uniforme en *P. mendocina*. Con restricción en la radiación en periodo vegetativo (SV_2), las plantas sufrieron un aumento en la biomasa de raíz y en el contenido total de hidratos de carbono (Cuadro 4.4), comparadas con las plantas control. Por otro lado, cuando el sombreado se aplicó durante la etapa reproductiva (SR_2) ni la biomasa de raíz, ni el contenido de reservas difirieron de los de las plantas control (Cuadro 4.4).

Sin embargo, la mayor acumulación de reservas (Pre-tratamiento ST_1) en conjunto con el efecto de los sombreados (SR_2 , SV_2) provocó en la biomasa de raíz y el contenido de TNC respuestas similares en ambas especies, cuando las plantas fueron comparadas con las testigos C_1+C_2 (plantas que no fueron tratadas). Así, en ambas especies el SV_2 provocó un aumento de la biomasa de raíz y del contenido TNC (Figura 4.6). Mientras que con el SR_2 los dos atributos de perennidad evaluados casi no difirieron de las plantas C_1+C_2 , la excepción a esta respuesta estuvo dada por la biomasa de raíz en *P. pinetorum*, la cual se incrementó comparada con las plantas testigo (Figura 4.6 C).

1.3 Plantas con menores reservas que las C₁ (Pre-tratamiento R₁).

Las plantas de ambas especies que iniciaron su segundo ciclo con bajo contenido de reservas (Pre-tratamiento R₁), mostraron la misma respuesta ante el tratamiento de SV₂, aplicado el segundo ciclo: un aumento de su contenido de reservas (TNC g), que se acompañó con la estabilidad de la biomasa de raíz, en relación a las plantas del tratamiento control (Cuadro 4.4). Esto resultó en las dos especies en un incremento de la biomasa de raíz y del contenido de reservas (TNC g), comparadas con las plantas testigo (C₁+C₂, Figura 4.6).

En cambio frente a la restricción de la radiación en periodo reproductivo (SR₂) la respuesta de las especies fue diferente. *P. mendocina* mantuvo sin cambios, sus caracteres asociados a la perennidad comparadas con las plantas del tratamiento control-C₂ y las testigo-C₁+C₂ (Cuadro 4.4 y Figura 4.6). Mientras que *P. pinetorum* bajo el tratamiento de SR₂ presentó una disminución de la biomasa de raíz y del contenido de reservas, en relación a las plantas del tratamiento control (Cuadro 4.4) y a las plantas testigos (Figura 4.6).

2. Efecto de la historia previa a la reducción de los destinos durante el segundo ciclo (R₂).

La respuesta al tratamiento de remoción (R₂) aplicado el segundo ciclo a plantas con contenidos normales de TNC (Pre-tratamiento C₁) fue similar para ambas especies. Un incremento en el contenido de reservas (TNC g), pero sin efecto sobre la biomasa de raíz, la cual se mantuvo sin cambios en relación a las plantas del tratamiento C₂ (Cuadro 4.4).

La respuesta de ambas especies al tratamiento R₂ aplicado el segundo ciclo fue diferente cuando las plantas tuvieron mayor acumulación de reservas (Pre-tratamiento ST₁). En *P. mendocina* el tratamiento de R₂ provocó un aumento de la biomasa raíz, que no produjo cambios en el contenido de reservas el cual se mantuvo similar al de las plantas C₂ (Cuadro 4.4). Sin embargo, tanto el contenido de TNC como la biomasa de raíz mostraron un incremento cuando se los comparó con las plantas testigo (C₁+C₂, Figura 4.6). En *P. pinetorum*, en cambio, la remoción (R₂) provocó una disminución del contenido de reservas, sin cambios en la biomasa de raíz en relación a las plantas control (Cuadro 4.4). A pesar de esta disminución, los valores del TNC y de la biomasa de raíz, no difirieron de las plantas testigo C₁+C₂ (Figura 4.6).

Las plantas de ambas especies que iniciaron su segundo ciclo con bajas reservas (Pre-tratamiento R₁) mostraron respuestas diferentes en el contenido de reservas y la biomasa de raíz, frente a la remoción aplicada en el segundo ciclo (R₂). *P. mendocina* mostró un incremento del contenido de TNC, sin cambios en la biomasa de raíz, en relación a las plantas del tratamiento control (Cuadro 4.4). Esto resultó en un aumento de ambos caracteres comparados a los de las plantas no tratadas C₁+C₂ (Figura 4.6). En *P. pinetorum* se observó una disminución del contenido de reservas sin cambios en la biomasa de raíz comparadas a las plantas del tratamiento control (Cuadro 4.4) y a las plantas testigo (C₁+C₂, Figura 4.6).

Cuadro 4.4: Efecto de la historia previa de reservas carbonadas (Pre-tratamientos) en plantas de *P. mendocina* y *P. pinetorum* sometidas a cambios en la relación fuente destino del 2^{do} ciclo (Tratamientos), sobre caracteres asociados a la perennidad (biomasa de raíz y contenido total de TNC en raíces, TNC g). Pre-tratamientos aplicados el 1^{er} ciclo de cultivo: ST₁: sombreado total, C₁: control, R₁: remoción de yemas florales. Tratamientos aplicados el 2^{do} ciclo de cultivo: SV₂: sombreado vegetativo, SR₂: sombreado reproductivo, C₂: control y R₂: remoción de yemas florales. Los valores representan las medias ± E.E. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo pre-tratamiento de acuerdo al ANOVA (Valor del estadístico F). * p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001 gl error = 48, N= 60.

		<i>P. mendocina</i>					<i>P. pinetorum</i>				
	Pre-tratamientos	Tratamientos				Valor F	Tratamientos				Valor F
		SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂		SV ₂	SR ₂	C ₂	R ₂	
RAÍZ (g)	ST ₁	2,33 ± 0,26 b	1,51 ± 0,12 a	1,24 ± 0,05 a	2,62 ± 0,12 b	17,6***	3,92 ± 0,16 b	3,06 ± 0,09 a	3,01 ± 0,31 b	2,61 ± 0,24 ab	9,4***
	C ₁	1,74 ± 0,15 a	1,66 ± 0,29 a	1,43 ± 0,2 a	1,63 ± 0,15 a	0,42 ns	2,17 ± 0,23 a	3,16 ± 0,21 b	2,16 ± 0,26 a	2,05 ± 0,33 a	5,78***
	R ₁	1,94 ± 0,17 a	1,68 ± 0,18 a	1,93 ± 0,293 a	1,76 ± 0,21 a	2,09 ns	2,78 ± 0,22 c	0,82 ± 0,07 a	2,23 ± 0,18 bc	1,93 ± 0,22 b	20,12***
TNC (g)	ST ₁	0,46 ± 0,07 b	0,19 ± 0,01 a	0,25 ± 0,02 a	0,27 ± 0,02 a	12,33***	0,42 ± 0,04 b	0,23 ± 0,02 a	0,67 ± 0,06 c	0,27 ± 0,02 a	25,28***
	C ₁	0,39 ± 0,02 b	0,23 ± 0,04 b	0,16 ± 0,02 a	0,23 ± 0,02 b	15,55***	0,49 ± 0,07 d	0,09 ± 0,03 a	0,28 ± 0,04 b	0,37 ± 0,08 c	8,08***
	R ₁	0,43 ± 0,05 b	0,19 ± 0,03 a	0,23 ± 0,03 a	0,36 ± 0,04 b	8,15***	0,57 ± 0,03 c	0,11 ± 0,02 a	0,29 ± 0,02 b	0,14 ± 0,03 a	81,41***

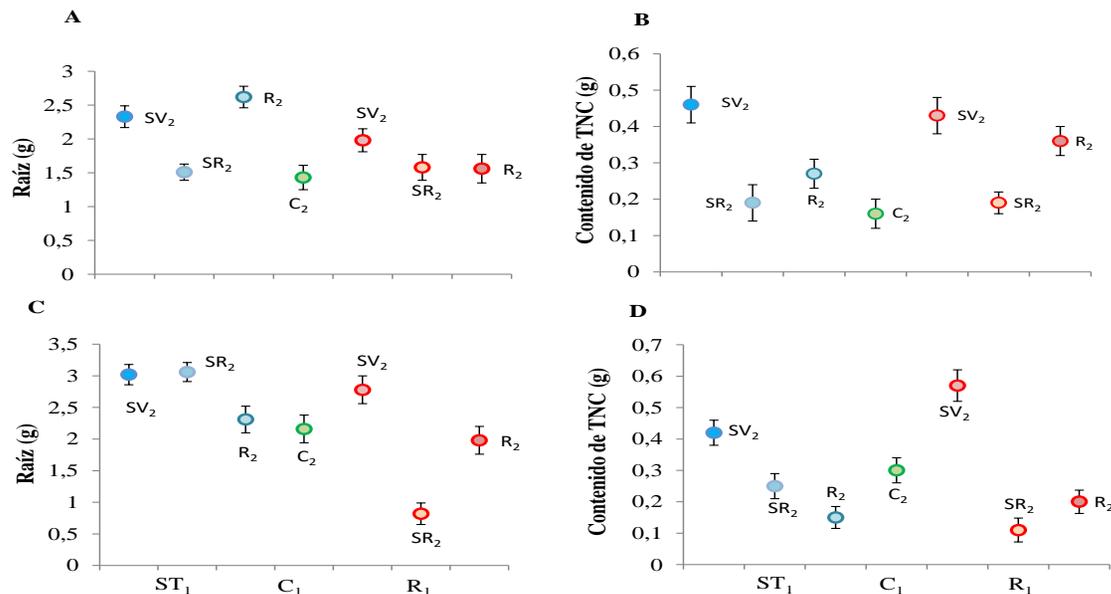


Figura 4.6: Biomasa de raíz y el contenido de TNC (TNC g) para *P. mendocina* (A, B) y *P. pinetorum* (C, D) en plantas con distinta historia previa de reservas carbonadas (Pre-tratamiento, C₁: control, ST₁: sombreado total, y R₁: remoción, aplicados el 1^{er} ciclo de cultivo), sometidas a cambios en la relación fuente destino el 2^{do} ciclo de cultivo (Tratamientos; rótulo sobre el punto: C₂: Control, SV₂: sombreado vegetativo; SR₂: sombreado reproductivo, R₂: remoción de yemas florales). C₁-C₂ es el Control para pre-tratamiento y tratamiento. Los valores representan las medias ± E.E.

4.4 Discusión

Las especies perennes que han sido seleccionadas para incrementar el rendimiento de semilla usualmente muestran el costo del aumento de la reproducción en términos de disminución del crecimiento (e.j. reducida producción de biomasa), reproducción no sostenida en el tiempo (e.j. menor rendimiento o número de frutos a través de los años de cultivo), o menor longevidad y capacidad de supervivencia (menor capacidad de almacenamiento; Piper y Kulakov 1994, Aragón et al. 2009) en los ciclos subsiguientes de cultivo. Sin embargo, hay controversia en la importancia del costo de la reproducción en las plantas perennes, con estudios que describen los efectos negativos de la reproducción actual sobre el futuro rendimiento, mientras que otros trabajos no pueden detectar tales efectos negativos (Obeso 2002, Piper 1992, Reekie y Ávila-Sakar 2005, Van Dijk 2009). Mi tesis se inserta en este contrapunto entre la teoría de la fisiología vegetal a escala de planta y los datos obtenidos en casos empíricos.

En este capítulo el análisis de la dinámica de acumulación y utilización de los hidratos de carbono almacenados en la raíz se realizó desde dos puntos de vista. Por un lado, en relación a la supervivencia y longevidad de las plantas. Por el otro, desde su asociación con el rendimiento y los caracteres que lo definen. El entendimiento de estos mecanismos es central para definir un ideotipo de cultivo perenne para sistemas productivos en ambientes con baja o fluctuante disponibilidad de recursos.

La hipótesis que se puso a prueba plantea que la historia previa de acumulación de hidratos de carbono de reserva generaría diferencias en las estrategias de adquisición y partición de carbono actual y que estas diferencias estarían asociadas al grado de perennidad de cada especie (Hipótesis 2). La primera forma en que analicé esta hipótesis fue utilizando plantas Control (C_2 ; no tratadas durante el segundo ciclo de cultivo) que habían iniciado este segundo ciclo con patrones de acumulación de biomasa y reservas contrastantes. Los resultados mostraron que las reservas almacenadas en el primer ciclo (Figura 4.2) determinaron lo que sucedió durante el segundo ciclo de cultivo. Cuando las plantas lograron una mayor acumulación de reservas el primer ciclo (Pre-tratamiento ST_1) encontré en el segundo año de cultivo una notable disminución de la biomasa, la asignación a semilla y el rendimiento (Cuadro 4.2). Lo opuesto (un aumento de la biomasa y el rendimiento de semilla) se encontró en plantas que iniciaron su segundo ciclo de cultivo con bajas reservas (Pre-tratamiento R_1). En ambos casos y pese a las distintas prioridades de asignación del carbono logradas en el primer año al finalizar el segundo año de cultivo en condiciones de disponibilidad ambiental normal (tratamiento C_2), no se encontraron diferencias en el almacenamiento de reservas entre las plantas provenientes de los tres diferentes pre-tratamientos. Es decir, las diferencias generadas por la historia previa, desaparecieron con un segundo ciclo de disponibilidad ambiental normal (C_2). Esta respuesta, donde las plantas independientemente de sus condiciones iniciales (altas o bajas reservas) priorizan la estabilidad de las reservas, expresa una estrategia conservativa en el uso del carbono adquirido (Roumet et al. 2005). En la cual las reservas actúan como un activo destino con alta prioridad en el sistema planta (Silpi et al. 2007).

Las dos especies, al iniciar su segundo ciclo de crecimiento con alta acumulación de reservas (ST_1) y ser sometidas durante el segundo ciclo a los tratamientos de variación en la disponibilidad de asimilados (Tratamientos SV_2 , SR_2 y R_2), no difirieron en la respuesta de los caracteres productivos (biomasa, rendimiento e índice de cosecha), pero sí en las respuestas de los atributos de los cuales depende la supervivencia futura (y por consiguiente la perennidad). En general, el rendimiento y los caracteres que lo definen (biomasa total, e IC) mostraron el efecto de la historia previa pero no el efecto de la disponibilidad de asimilados actual (su segundo ciclo de cultivo, Cuadros 4.3 A, B y 4.5). La excepción a esta baja respuesta a la disponibilidad actual fue el incremento de la

biomasa total en *P. mendocina* y la asignación a semilla en *P. pinetorum*, producto de la remoción actual de yemas. Esta remoción temprana estimuló la productividad en todos mis experimentos en algunos casos a través de la utilización de las reservas.

La relativamente poca variación en el rendimiento y sus componentes en su segundo ciclo de cultivo, indicó que la productividad dependió mayoritariamente de la historia previa de la planta y que *Physaria* se ajusta al ambiente manteniendo los recursos adquiridos (estrategia conservativa, Cuadro 4.5). Cuando las condiciones de disponibilidad son fluctuantes, esta estrategia redundante en un uso más eficiente de los recursos (Mondolot et al. 2008) debido a que las reservas almacenadas previamente amortiguarían la producción de biomasa y la asignación a reproducción en años con baja disponibilidad recursos (Slewinski 2012).

Aún cuando la estrategia general de ambas especies fue conservativa, se encontraron algunas diferencias entre especies. *Physaria mendocina* mostró frente al sombreado en etapa vegetativa (SV_2) y a la remoción de estructuras reproductivas (R_2) un incremento en la biomasa de raíz lo cual provocó el aumento primero y la estabilidad de las reservas al finalizar el segundo ciclo de cultivo dependiendo de su historia actual (Figuras 4.5, 4.6 y Cuadros 4.4). Esta es la respuesta conservativa esperada en especies perennes, las cuales no sólo tienen que satisfacer las necesidades actuales de asimilados sino asegurar su perpetuación. El almacenamiento de reservas al final de la estación de crecimiento es una adaptación que les permite tratar con la asincronía entre la disponibilidad y la demanda de carbono (Mooney y Billings 1960). Este comportamiento en *P. mendocina* apoya la predicción 4.1 A y verifica la relación de compromiso entre la reproducción actual y la supervivencia. A su vez se rechaza la predicción 4.1B, la cual establecía la inexistencia de compromiso con un segundo ciclo de remoción (Cuadro 4.5).

Por el contrario, para *P. pinetorum* la baja disponibilidad de asimilados por sombreado (SV_2) y la alta disponibilidad producto de la remoción (R_2), disminuyeron por igual el porcentaje y el contenido de TNC. De esta manera los dos tratamientos, antes descritos, provocaron que las plantas alcancen la madurez del segundo ciclo con bajo contenido de reservas (Figuras 4.5, 4.6, Cuadro 4.4). Así, y en contra de la respuesta esperada para una especie perenne, las reservas no fueron un destino prioritario el segundo ciclo de cultivo para esta especie. La disminución del almacenamiento de carbohidratos está asociada con la baja supervivencia (Myers y Kitajima 2007, Piper et al. 2009, Vilela y González-Paleo 2015), con baja capacidad de re-crecimiento (Vilela et al. 2012, 2016), menor resistencia al ataque biótico y menor longevidad de la planta (Chiarello y Roughgarden 1984; González-Paleo y Ravetta 2011). La respuesta de *P. pinetorum* apoya la predicción 4.1B, con una estrategia en la cual prioriza su reproducción inmediata en vez de las futuras contribuciones al fitness (Cuadro 4.5), comportamiento que se ha reportado en otra especie perenne de baja longevidad (*Trifolium grandiflorum*; Lubers y Lechowics 1989).

La segunda predicción (4.2), derivada de la hipótesis general que se puso a prueba en este capítulo, proponía que individuos de especies perennes con una baja acumulación de reservas carbonadas al finalizar el primer ciclo de crecimiento (R_1), priorizarían en el segundo ciclo de crecimiento la asignación a almacenamiento y a órganos de perpetuación, a expensas de la asignación a semillas. Esta respuesta sería más fuerte que los cambios producidos por diferencias en la disponibilidad actual de foto-asimilados (tratamientos de modificación de la relación fuente/destino del segundo ciclo: SV_2 , SR_2 , R_2).

Las dos especies de *Physaria* que durante su primer ciclo de crecimiento presentaron remoción de yemas florales (R_1) y no tuvieron variación en la disponibilidad de asimilados el segundo ciclo (C_2 , año normal) mostraron respuestas distintas en sus

caracteres productivos y de perpetuación. *P. pinetorum* aumentó su asignación a crecimiento y reproducción mientras que las reservas se mantuvieron estables. *P. mendocina* en cambio tuvo la respuesta contraria, es decir un aumento en la acumulación de reservas mientras que sus caracteres productivos no presentaron cambios (Cuadro 4.5).

La plasticidad observada en el comportamiento de las reservas, es relevante en estos ambientes con gran variabilidad interanual en la disponibilidad de recursos, así las plantas podrían hacer frente a un año con baja disponibilidad de recursos y perpetuarse y sobrevivir en un tercer ciclo de crecimiento (Obeso 2002, Lubbers y Lechowics 1989, Kobe 1997).

En general en las hierbas perennes las yemas florales son un fuerte destino para los asimilados, por lo cual su remoción (por ejemplo, por herbivoría) provoca un incremento de la distribución de asimilados a raíces y reservas (Cockshull 1982, Schupp et al. 1992; Famiani et al. 2000). Sin embargo, en algunos casos y en particular en aquellas especies de floración indeterminada, es frecuente encontrar, tras la pérdida temprana de yemas florales, una sobre-compensación del rendimiento sustentada en el uso de reservas de corto plazo (Obeso y Grubb 1994). Las dos perennes aquí evaluadas muestran una respuesta especie-específica frente a la remoción en su primer ciclo en la cual *P. mendocina* traslocaría los foto-asimilados a raíces y reservas, mientras que *P. pinetorum* los destinaría a rendimiento.

Cuando las dos especies analizadas en este capítulo fueron sometidas a remoción durante su primer ciclo (R_1), pero durante el segundo ciclo tuvieron sombreado (SV_2), presentaron respuestas diferentes en los caracteres reproductivos, sin embargo ambas mantuvieron constante el crecimiento y la asignación a reservas. Las diferencias estuvieron determinadas por el aumento en el índice de cosecha en *P. pinetorum* lo cual provocó un incremento en su rendimiento (Cuadro 4.3 B y Figura 4.4 B).

Como resultado, la sobre-compensación puede reducir las reservas que las plantas perennes utilizan para hacer frente a las futuras demandas de crecimiento y reproducción (Canadell y López-Soria 1998; Marquis 1992; Garcia y Ehrlén 2002, Latzel et al. 2014). Aun cuando en el corto plazo esta respuesta ayudaría a mantener la tasa de reproducción (y en el caso de un cultivo el rendimiento), el uso de reservas podría resultar en las disminuciones del rendimiento en los años subsiguientes. Por ejemplo, se ha encontrado en otras especies que luego de un año de muy alto rendimiento provocado por sobre-compensación, las plantas pueden no florecer. En las que sí florecen la producción de semilla disminuye notablemente, como consecuencia de una disminución en el número de óvulos producida por la disminución de los recursos disponibles para la reproducción (Horibota et al. 2007). En el caso que el costo de la reproducción fuese solventado por las reservas, no se reduciría el rendimiento, pero sí podría limitarse la capacidad de perpetuación.

La evidencia en *Physaria pinetorum* sometida a remoción en su primer ciclo (R_1) y sombreado vegetativo en el segundo (SV_2), que mostró un aumento de la asignación semilla (IC) del rendimiento y de las reservas, indicaría que el compromiso entre reproducción y reservas no es universal (predicción 4.2). Esta respuesta coincide con lo reportado por varios autores (Jackson y Dewald 1994, Piper y Kulakow 1994, Cox et al. 2006, DeHaan y Van Tassel 2014). Sin embargo, como fue expresado anteriormente, este incrementó en los caracteres productivos, podría limitar la capacidad de perpetuación de esta especie los años subsiguientes. Debido a que las reservas usadas para el rendimiento actual no estarían disponibles en el futuro para funciones que redundan en el mantenimiento de la longevidad y la supervivencia (Obeso 2002; Lubbers y Lechowics 1989, Wyka 2000).

En general cuando las perennes no muestran una relación de compromiso (no trade-off), suele aparecer un incremento en la tasa de fotosíntesis (Dehann et al. 2005, Jaikumar et al. 2103). Este aumento en la tasa de asimilación se ha documentado en *Physaria*, (Ploschuk 2001, González-Paleo y Ravetta 2011b) y en esta tesis también se encontró evidencia de un aumento de la asimilación como consecuencia de un aumento en el rendimiento generado por sobre-compensación debido a la remoción temprana de destinos (Capítulo II).

La respuesta de *P. pinetorum* fue distinta a la descrita anteriormente cuando la limitación de la radiación fue durante el periodo reproductivo (SR_2). En estas condiciones (inicio del segundo ciclo con bajas reservas y sombreo reproductivo) las plantas tuvieron menos biomasa, rendimiento y se redujeron sus reservas (Cuadro 4.3 B y Figura 4.4 B). Esta temporalidad de la sensibilidad a la radiación es común en cultivos de grano anuales (Jiang y Egli 1995, Egli y Bruening 2002, Kantolic et al. 2013). En este sentido, estudios realizados en dos especies de *Physaria*, *P. mendocina* y la anual *P. flendleri*, demostraron que estas dos especies tuvieron respuestas diferentes y específicas a la cantidad de horas de exposición a la luz. La floración de *P. mendocina*, fue insensible al fotoperiodo, en contraste *P. flendleri* tuvo una respuesta cuantitativa de día largo para la tasa de desarrollo desde la aparición de botón floral a floración (Windauer et al. 2005), en forma similar a respuestas reportadas para otras especies de la misma familia (Salisbury y Green 1991, Nanda et al. 1996; Vilariño et al. 1998). Se desconoce aún si *P. pinetorum* tiene sensibilidad fotoperiódica.

Por otra parte, cuando estas plantas provenientes del pre-tratamiento de remoción durante el ciclo (R_1) fueron sometidas a remoción en su segundo ciclo de cultivo (R_2), la mayor acumulación de biomasa lograda el primer ciclo con la remoción de estructuras reproductivas fue potenciada por la remoción el segundo ciclo (R_2), en las dos especies (Cuadro 4.3 A y B; Figura 4.4 A y B). Así, el resultado de estos dos años consecutivos de remoción de estructuras reproductivas fue la mayor biomasa total acumulada finalizando el segundo ciclo de cultivo (Cuadro 4.5). Nuevamente el comportamiento de las reservas tuvo diferentes destinos en las dos perennes. En las plantas de *P. mendocina* estuvo principalmente destinado a recomponer las reservas con las que iniciaron su segundo ciclo (Figura 4.2). Mientras que en *P. pinetorum* los asimilados actuales potenciaron el efecto del primer ciclo (R_1) priorizando la acumulación de biomasa por sobre las reservas (Cuadro 4.5).

La habilidad de las plantas para generar nuevas yemas florales, lo cual podría recuperar la biomasa original y eventualmente producir más semilla, se ve afectada por varios factores. Dentro de los que se incluyen: la disponibilidad de nutrientes, la ontogenia de la planta, la etapa fenológica, como, también el pool de meristemas disponibles y el almacenamiento de carbohidratos (Ferraro y Oesterheld 2002, Huhta et al. 2003, Martínková et al. 2004; Latzel y Klimešová 2009, Latzel et al. 2011, Clarke et al. 2013).

En particular la relación entre meristemas disponibles y reservas responde a interacciones complejas. Por ejemplo, se ha descrito que un efecto de la remoción de yemas florales permite el desbloqueo y la generación de nuevas yemas (vegetativas y reproductivas) que utilizan y reducen las reservas de carbono. Sin embargo, la nueva biomasa producida permite recargar nuevamente las reservas y esas nuevas reservas son utilizadas para sostener el nuevo flujo de floración y fructificación (Latzel et al. 2014). Esta fluctuación es similar a la ocurrida en *P. pinetorum*, la cual priorizó la generación de biomasa por sobre las reservas y es opuesto a lo encontrado en *P. mendocina* la cual recompuso sus reservas en ambos ciclos de cultivo priorizando el almacenamiento al crecimiento y a la reproducción.

Cuadro 4.5: Resumen de los resultados que explican el sentido de cambio de las funciones de crecimiento, reproducción y perennidad (utilizando como proxy las reservas) para *Physaria mendocina* y *P. pinetorum* al finalizar su segundo ciclo de cultivo. Las dos especies fueron sometidas a alta y baja disponibilidad de foto-asimilados el primer (R_1 , ST_1) y segundo ciclo (SV_2 , SR_2 , C_2) de cultivo en relación a plantas no tratadas (C_1C_2). R_1 : remoción de yemas y ST_1 : sombreado total, durante el 1^{er} de ciclo cultivo. SV_2 : sombreado vegetativo, SR_2 : sombreado reproductivo, R_2 : remoción de yemas florales y C_2 : control durante el 2^{do} ciclo de cultivo. El sentido de cambio de las funciones hace referencia a la dirección de cambio del el crecimiento, la reproducción y la perennidad ante condiciones de variación en la disponibilidad de foto-asimilados (aumento: +, disminución: - constante: =). Los años buenos, malos y normales se refieren a la alta disponibilidad de foto-asimilados producto del corte (R_1 , R_2), la baja debido al sombreado (ST_1 , SV_2 , SR_2) y a los ciclos sin tratamientos (C_1 , C_2), respectivamente.

HISTORIA PREVIA DE ALMACENAMIENTO (Pre-tratamientos-1 ^{er} ciclo)	PARTICIÓN DE C ACTUAL (Tratamientos-2 ^{do} ciclo)	RESPUESTA EN RELACIÓN A PLANTAS NO TRATADAS C_1C_2	CONCLUSIÓN
ALTA DISPONIBILIDAD DE FOTO-ASIMILADOS <ul style="list-style-type: none"> • Reducen las reservas de C • Crecen y se reproducen AÑO BUENO (R_1)	NORMAL (C_2)	<i>P. pinetorum</i> : + CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN, = ACUMULACION DE RESERVAS <i>P. mendocina</i> : = CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN, + ACUMULACION DE RESERVAS	<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta especie-específica. • Amortiguan la reducción de reservas del primer ciclo. • Compromiso entre crecimiento, reproducción y acumulación de reservas <i>P. pinetorum</i> : estrategia adquisitiva-prioriza crecimiento y reproducción. <i>P. mendocina</i> : estrategia conservativa prioriza la acumulación de reservas.
	BUENO (R_2)	<u>AMBAS ESPECIES</u> + CRECIMIENTO Y REPRODUCCION <i>P. pinetorum</i> : - ACUMULACIÓN DE RESERVAS <i>P. mendocina</i> : + ACUMULACIÓN DE RESERVAS	<ul style="list-style-type: none"> • El efecto de la alta disponibilidad de foto-asimilados del 1^{er} ciclo sobre el crecimiento y la reproducción se mantiene. • Respuesta especie-específica solo en la asignación de C a reservas <i>P. pinetorum</i> : estrategia adquisitiva <i>P. mendocina</i> : estrategia conservativa
	MALO (SV_2 - SR_2)	SV_2 <u>AMBAS ESPECIES</u> = CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN, + ACUMULACIÓN DE RESERVAS.	<u>AMBAS ESPECIES</u> incrementan la acumulación de reservas, pero sin detrimento del crecimiento y la reproducción. Incluso <i>P. pinetorum</i> aumenta el índice de cosecha lo cual provoca un aumento en el rendimiento.
		SR_2 <i>P. pinetorum</i> : - CRECIMIENTO, REPRODUCCION Y ACUMULACIÓN DE RESERVAS. <i>P. mendocina</i> : = CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN Y ACUMULACIÓN DE RESERVAS.	<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta especie-específica • Sensibilidad diferencial durante el período reproductivo. <i>P. pinetorum</i> : afectada por la limitación a la radiación en periodo reproductivo. <i>P. mendocina</i> : ningún cambio en sus caracteres.
BAJA DISPONIBILIDAD DE FOTO-ASIMILADOS <ul style="list-style-type: none"> • Aumentan las reservas de C • Reducen crecimiento y reproducción AÑO MALO (ST_1)	NORMAL (C_2)	<u>AMBAS ESPECIES</u> - CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN + ACUMULACION DE RESERVAS.	<u>AMBAS ESPECIES</u> NO pueden amortiguar el efecto de la baja disponibilidad de foto-asimilados durante el primer ciclo.
	BUENO (R_2)	<u>AMBAS ESPECIES</u> - CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN <i>P. pinetorum</i> : = ACUMULACIÓN DE RESERVAS <i>P. mendocina</i> : + ACUMULACIÓN DE RESERVAS.	<ul style="list-style-type: none"> • El efecto de la baja disponibilidad de foto-asimilados del 1^{er} ciclo sobre el crecimiento y la reproducción se mantiene. • Respuesta especie-específica solo en la asignación de C a reservas. <i>P. pinetorum</i> : estrategia adquisitiva <i>P. mendocina</i> : estrategia conservativa
	MALO (SV_2 - SR_2)	<u>AMBAS ESPECIES</u> - CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN, + ACUMULACIÓN DE RESERVAS.	<u>Potencian</u> la respuesta del primer ciclo, reduciendo crecimiento y reproducción y aumentando las reservas para asegurar la perennidad.

4.5 Conclusiones

Existe una enorme diversidad entre tipos de plantas perennes y de patrones de longevidad (Jones et al. 2014). Mis resultados están de acuerdo con la idea que la variación inter-específica en las reservas carbonadas sería una base importante de variación en las estrategias de vida en las especies perennes (Kobe 1997; Canham et al. 1999, Myers y Kitajima 2007), permitiendo confirmar respuestas comunes a ambas especies estudiadas y comportamientos que las diferencian.

La característica común más notable encontrada en las dos especies fue el comportamiento frente a la baja disponibilidad de asimilados el primer ciclo de cultivo (ST_1). Esta respuesta implicó la disminución de todos los componentes del rendimiento (biomasa total, rendimiento e IC) durante el segundo ciclo de crecimiento, mientras que los asociados a la supervivencia y perennidad (biomasa de raíz, contenido y porcentaje de reservas) aumentaron y se recompusieron llegando a niveles que pueden considerarse normales en *Physaria*. Estos resultados ponen en evidencia que la ganancia de carbono durante el primer ciclo de cultivo es relativamente más importante para el rendimiento que la fotosíntesis actual. También que en un año con baja disponibilidad ambiental la acumulación de reservas podría jugar un rol clave en la supervivencia y reproducción potencial de las especies perennes del género.

Otra respuesta similar en las dos especies fue la evidencia de un mecanismo compensatorio, determinado por el aumento de la biomasa total debido a la remoción temprana de las estructuras reproductivas (R_1 - R_2). Sin embargo, si bien ambas especies aumentaron su biomasa, la diferencia se encontró en la sobre-compensación de la biomasa en *P. pinetorum* la cual implicó el uso de las reservas almacenadas. Por el contrario, la estrategia de *P. mendocina* fue privilegiar el aumento de las reservas.

El suministro extra de asimilados provocado por la remoción de yemas florales tuvo diferentes destinos jerárquicos en las dos especies y permite adscribir estas respuestas a diferencias ya descritas en sus estrategias de su uso de recursos (González-Paleo y Ravetta 2011). *Physaria mendocina* frente a cambios en la disponibilidad ambiental tuvo como destino prioritario los órganos de almacenamiento (Estrategia conservativa) verificando la relación de compromiso entre la reproducción actual y caracteres determinantes de la perennidad. Esta estrategia ha sido observada en otras herbáceas perennes, en las que la pérdida de estructuras reproductivas se balancea con un aumento de las reservas en raíces tanto para el futuro crecimiento, como para hacer frente al nuevo ciclo reproductivo (Schupp et al. 1992; Famiani et al. 2000).

Por otro lado, *P. pinetorum* presentó una estrategia de maximización del crecimiento (Estrategia más adquisitiva), en la cual la asignación de recursos a crecimiento actual tuvo prioridad sobre la supervivencia y reproducción futura. Esta respuesta de compromiso ya ha sido reportada para otras especies perennes (por ejemplo, en *Trillium grandiflorum*, Lubbers y Lechowicz 1989) y cuestiona la viabilidad de la domesticación de los granos perennes (Denison 2012).

Dentro de las características más notables que diferencian a las dos perennes se encuentra una sensibilidad diferencial durante el período reproductivo. Esta diferencia temporal de sensibilidad se ve en *P. pinetorum* con una disminución en los componentes del rendimiento y en los caracteres asociados a la perennidad, frente a la restricción de la radiación en etapa reproductiva. Una respuesta similar a la encontrada en el Capítulo II. En cambio, la estabilidad fue la característica central de la respuesta de *P. mendocina* para la cual no se encontró un efecto de la disminución de la radiación en los componentes del rendimiento ni en los asociados a la perennidad.

Los ambientes de tipo Mediterráneo poseen sequía terminal y heladas de primavera tardía. En estos ambientes las plantas deben afrontar dos factores limitantes

del rendimiento: la sequía terminal desde floración a madurez y la posibilidad de que las heladas tardías coincidan con la aparición de las estructuras reproductivas. En este contexto el alargamiento de la etapa reproductiva de *P. pinetorum* ante una baja disponibilidad ambiental en el periodo reproductivo (SR₂) podría comprometer la estabilidad del rendimiento. Por el contrario, en *P. mendocina* la baja plasticidad (estabilidad) de todos los caracteres analizados en torno a cambios en la disponibilidad ambiental en la etapa reproductiva haría de esta especie el ideotipo más adecuado de cultivo para estos sistemas productivos.

La persistencia y mantenimiento del rendimiento a lo largo de los ciclos de crecimiento ha sido difícil de alcanzar y ocupa mucha de la atención de los mejoradores de cultivos de granos perennes (Cox et al. 2002, DeHaan et al. 2016). Información empírica como la generada en este capítulo de cómo la disponibilidad de asimilados afecta a la acumulación de reservas, al rendimiento y a los caracteres que lo definen es crucial cuando se necesita definir criterios de selección de especies perennes, debido a su asociación con la longevidad y estabilidad del rendimiento de la planta.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN GENERAL.

Las investigaciones en plantas herbáceas perennes con potencial para la producción de granos han revelado fenotipos que poseen rasgos para la domesticación que difieren de las anuales, lo que implica que el ideotipo de planta seleccionada tiene que ser re-diseñado y cuidadosamente pensado (Miller y Gross 2011). Las sociedades modernas no sólo exigen de la agricultura alimentos y materias primas, sino también sostenibilidad y una variedad de servicios ecosistémicos. Estos requerimientos pueden ser aportados por prácticas adecuadas, entre las que se ha propuesto el desarrollo de sistemas agrícolas perennes, que se asemejan a la vegetación original (Jackson 2002, Ridley y Pannell 2005, Cox et al. 2006, DeHaan et al. 2005, González-Paleo y Ravetta 2015). Algunos de los beneficios derivados del uso de cultivos perennes son el alargamiento de la estación de crecimiento y la mayor productividad potencial, la presencia de sistemas de raíces profundas, el mayor tiempo con el suelo cubierto (que puede ayudar a prevenir la escorrentía) y en algunos casos la mayor tolerancia a la sequía que las anuales (Kantar et al. 2016, Glover et al. 2010, Wagoner 1990, Pimm 1997).

En esta tesis se buscó entender cómo los caracteres asociados al crecimiento y las relaciones funcionales entre ellos generan variaciones en la asignación de los recursos entre plantas anuales y perennes, y como estas diferencias definen las estrategias de crecimiento. Para ello se utilizó como sistema experimental un conjunto de dos especies de ciclo perenne y se las comparó con otras dos de ciclo anual, todas del género *Physaria* (Brassicaceae). El género ha sido propuesto como potencial nuevo cultivo para la producción de aceite de semilla que contiene ácidos grasos hidroxilados (Roetheli et al. 1991, Dierig et al. 1993, 1996). Además, la familia Brassicaceae incluye numerosas especies domesticadas y otras asiduamente utilizadas en estudios genéticos (*Arabidopsis thaliana*). En particular mi evaluación buscó entender la asignación de carbono a funciones de reproducción, de tolerancia a la baja disponibilidad de agua, de perpetuación e identificar potenciales relaciones de compromiso entre la asignación a estas funciones.

En el capítulo II determiné el efecto de la disponibilidad de fotoasimilados sobre las estrategias de adquisición y partición de carbono. Para las especies anuales se esperaba que con alta disponibilidad de asimilados (remoción de pimpollos florales, tratamiento R) tuvieran una estrategia adquisitiva y mayor capacidad de crecimiento y asignación a reproducción. En cambio, con baja disponibilidad (reducción de la radiación incidente, tratamientos SV y SR) esperaba que se presentara una estrategia más conservativa. Para las especies perennes se esperaba que mantuvieran una estrategia conservativa independientemente de la disponibilidad de asimilados (R, SV, SR), con baja asignación a semilla a expensas de mayor asignación raíz y a reservas. Es decir que aunque existiera una relación de compromiso entre rendimiento y almacenamiento, la prioridad fuera siempre la de las funciones asociadas a la perennidad, en detrimento de la reproducción actual.

Los atributos que describen al crecimiento separaron a las especies anuales, *Physaria angustifolia* y *P. gracilis*, en un extremo del gradiente de asignación con un crecimiento y producción inestables frente a cambios en la disponibilidad ambiental. En cambio, el tratamiento de remoción de yemas florales agrupó por un lado a *Physaria gracilis* (anual) y *P. pinetorum* (perenne) con una respuesta similar, intensificando la capacidad de adquisición de carbono con el incremento en la asignación a biomasa y a reproducción (estrategia adquisitiva). Por otro lado, la remoción de botones florales en la perenne *P. mendocina* y la anual *P. angustifolia* no produjo cambios en el crecimiento, ni en los atributos relacionados a él.

Los resultados de los estudios pusieron en evidencia diferencias en el comportamiento de las especies perennes frente a la variación en la disponibilidad de recursos. *P. mendocina* mostró una estrategia conservativa, manteniendo estable el crecimiento, lo cual verificó la predicción 2.2, mientras *P. pinetorum* tuvo una respuesta similar a la de las especies anuales y opuesta a la predicción 2.2. Además, *P. pinetorum* fue la única de las 4 especies que respondió a la disminución de la radiación durante la etapa reproductiva. Esta respuesta apoya la idea de González-Paleo y Ravetta (2011) que describieron a *P. pinetorum* con un comportamiento intermedio entre el de las anuales y las perennes en sus estrategias de adquisición y uso de los recursos.

En el Capítulo III analicé la respuesta a la disponibilidad de recursos sobre el rendimiento y sus componentes y la relación entre rendimiento y reservas. Debido a que el peso de la semilla es el componente del rendimiento más homeostático (Harper 1967), se esperaba que la variación del rendimiento debida a modificaciones en las relaciones fuente-destino, se generara por cambios en el número de frutos por planta y en el número de semillas por fruto (Predicción 3.2) aunque no en el peso individual de la semilla. En términos agronómicos la estabilidad del peso de la semilla es un carácter deseable (Slafer y Savin 1994, Haro et al. 2008). Otro de los resultados esperados era que la condición de mayor disponibilidad de radiación produjera en las especies anuales una mayor asignación a rendimiento, como consecuencia de mayor duración de la etapa reproductiva. En cambio, en las especies perennes la duración de la etapa reproductiva se esperaba no se viera modificada y como consecuencia el rendimiento y sus componentes (biomasa e índice de cosecha) se mantendrían estables (Predicción 3.3).

La reducción de la disponibilidad de la radiación durante la etapa vegetativa (tratamiento SV) fue el tratamiento con mayor efecto. En primer lugar se encontró, en las cuatro especies, una disminución significativa del rendimiento cuando se disminuyó la disponibilidad de radiación en esta etapa. Esto demuestra que la respuesta del rendimiento ante la variación en la disponibilidad ambiental, es independiente del ciclo de vida (anual o perenne). Por otro lado, cuando se eliminó el 50% de las yemas florales, el rendimiento aumentó con una respuesta sobre-compensatoria, en tres de las cuatro especies (las dos anuales y la perenne *P. pinetorum*), pero no en *P. mendocina*. Este análisis del rendimiento confirmó la estrategia conservativa de *P. mendocina* y su diferencia con la otra especie perenne *P. pinetorum*, que tiende a comportarse como una planta anual en términos de asignación de biomasa.

Las diferencias en el rendimiento debidas a la manipulación de las relaciones fuente-destino estuvieron determinadas por el número de frutos por planta (Figura 3.1, 3.2 y 3.3). En los casos en los que se incrementó el rendimiento, el aumento en el número de frutos por planta estuvo asociado a un alargamiento de la etapa reproductiva (Cuadro 3.1), que si bien sugiere una ventana más amplia para lograr aumentar el rendimiento, puede tener dos consecuencias negativas. Por un lado, una etapa reproductiva más larga podría poner al cultivo frente a un riesgo mayor de una sequía terminal, común en ambientes de tipo Mediterráneo. Por otro, el aumento de asignación a reproducción en detrimento de almacenamiento podría potencialmente reducir la longevidad en las especies perennes debido a la posibilidad de la existencia de un compromiso entre el rendimiento y la perennidad (González-Paleo et al. 2016, González-Paleo y Ravetta 2011, Masnatta y Ravetta 2011, Ploschuk et al. 2001). Es por esta última posibilidad que fue necesario analizar la respuesta del almacenamiento de hidratos de carbono en las raíces.

El comportamiento de las funciones de almacenamiento de los hidratos de carbono fue diferente en las cuatro especies con una respuesta claramente vinculada al ciclo de vida. En las especies anuales los hidratos de carbono, en general, no cambiaron con los tratamientos de disponibilidad de fotoasimilados mientras que para las perennes se

observó un cambio en la partición o un aumento en los hidratos de carbono almacenados cuando la disponibilidad de radiación en periodo vegetativo fue reducida (tratamiento SV). Es decir que la disminución temprana de la disponibilidad de radiación generó la intensificación de la estrategia conservativa.

En las especies perennes de *Physaria* el mayor contenido de hidratos de carbono fue observado al inicio del crecimiento post-invernal aunque también se encontró un segundo máximo antes del periodo de floración, luego de que las plantas fueran sometidas a sombreado en su etapa vegetativa (SV). Este aumento de las reservas en el período vegetativo suele estar vinculado a su posterior uso durante la etapa de floración y producción de semilla y a mayor supervivencia (Matsuoka y Garcia 2011). Una vez que la etapa reproductiva se completa, las reservas se recomponen previo a la etapa de dormición para ser movilizadas y producir nuevas estructuras vegetativas en la próxima estación de crecimiento (Komor 2000, Rae et al. 2005). En contraposición a esta respuesta las especies anuales invierten el carbono preferencialmente en el crecimiento rápido y en etapas tempranas de la reproducción más que en el almacenamiento (Dina y Klikoff 1974, Otzen 1977), que fue la respuesta encontrada en las especies anuales de *Physaria*.

En su conjunto, la función de almacenamiento en las especies de *Physaria* perennes parece responder a la estrategia de que en años con baja disponibilidad ambiental (“malos”) las plantas almacenan recursos y en años con un buen suministro de los recursos (“buenos”) asignan a reproducción lo que determina un aumento del output reproductivo (González-Paleo y Ravetta 2011, González-Paleo et al. 2016). Esta estrategia ha sido descrita en otras hierbas perennes (Wyka 2000, Korner 2003) y es opuesta a la encontrada en arbustos o sub-arbustos (Vilela et al. 2003, Vilela et al. 2012).

Debido a los antecedentes de las especies perennes de *Physaria* y a los resultados de los capítulos II y III, en torno a las reservas carbonadas y su implicancia en la longevidad y reproducción futura, realicé un experimento de dos años exclusivo con las especies perennes. En el capítulo IV exploré el rol de los hidratos de carbono almacenados en un ciclo previo de cultivo y de variaciones en la disponibilidad actual de radiación en el compromiso entre caracteres determinantes del rendimiento y de la longevidad. Se esperaba que individuos de especies perennes con gran acumulación de reservas el primer ciclo de cultivo respondieran a la baja disponibilidad de fotoasimilados en su segundo ciclo priorizando la asignación a almacenamiento y a estructuras de perpetuación, por sobre los caracteres productivos. En cambio con mayor disponibilidad de foto-asimilados se esperaba que en su segundo ciclo de cultivo, prioricen la asignación a crecimiento y a semilla por sobre el almacenamiento. También, se esperaba que con baja acumulación de reservas el primer ciclo de crecimiento las especies perennes priorizarían la asignación a almacenamiento y a órganos de perpetuación a expensas de la asignación a semillas, y que esta respuesta fuera independiente de la disponibilidad actual de recursos.

La acumulación de reservas durante el primer ciclo fue modificada con dos tratamientos (surgidos de los capítulos II y III): sombreado y remoción de botones florales, además de un tratamiento control (ST₁, R₁, C₁; Figura 4.2). Esta historia previa de acumulación de reservas determinó el efecto de la disponibilidad actual. La respuesta al sombreado en el primer ciclo fue similar a las encontradas en los Capítulos II y III: el rendimiento y sus componentes más directos (biomasa total e IC) disminuyeron. Igualmente, la respuesta a la remoción temprana de botones florales provocó aumentos en el rendimiento y disminución en las reservas. Con estos Pre-tratamientos se lograron tres grupos de plantas: aquellas que iniciaron el segundo ciclo de cultivo con baja, intermedia y alta acumulación de reservas (8, 12 y 18 para el porcentaje y 0,08, 0,12 y 0,2 para el contenido de hidratos de carbono, respectivamente).

La respuesta a los tratamientos del segundo ciclo, en plantas que tuvieron baja disponibilidad de foto-asimilados durante su primer ciclo, difirió entre especies. *Physaria mendocina* mostró frente al sombreado en etapa vegetativa (SV_2) y a la remoción de estructuras reproductivas (R_2) un incremento en la biomasa de raíz, lo cual provocó el aumento de las reservas totales. Estos resultados ponen nuevamente de manifiesto que independientemente de la variación en la calidad ambiental el destino prioritario de los recursos para *P. mendocina* es el de las reservas (Cuadro 4.5). El almacenamiento de hidratos de carbono les permite a las plantas perennes amortiguar el estrés ambiental y aumentar su supervivencia (Kobe 1997, Janecek 2015). Este comportamiento en *P. mendocina* apoya la predicción 4.1A y verifica la relación de compromiso entre la reproducción actual y la perpetuación (Cuadro 4.5). A su vez, permite rechazar la predicción 4.1B, la cual establecía la no existencia de compromiso con un segundo ciclo de remoción.

Al contrario de lo encontrado en *P. mendocina*, para *P. pinetorum* la baja disponibilidad de asimilados por sombreado (SV_2) y la alta disponibilidad producto de la remoción (R_2), redujeron el porcentaje y contenido de TNC, llegando a la madurez del segundo ciclo con menor contenido de reservas que el inicial (Figura 4.5, Cuadro 4.4). Esta respuesta de *P. pinetorum* apoya la predicción 4.1B, con una estrategia en la cual prioriza su reproducción inmediata en vez de la perpetuación y la reproducción futuras.

Sin embargo, pese a la relación de compromiso encontrada en *P. pinetorum*, cuando las plantas fueron sometidas a dos ciclos de remoción de estructuras reproductivas (R_1 - R_2), la asignación a semilla (IC), el rendimiento y las reservas se vieron incrementadas. Así, esta especie también mostró evidencia de que el compromiso entre reproducción y reservas no es universal (predicción 4.2) y probablemente en *P. pinetorum* depende del nivel de reservas y de la disponibilidad actual de asimilados. Esta respuesta acerca del compromiso entre reproducción y longevidad en especies perennes es similar a la encontrada por otros autores (Obeso 2002, Jackson y DeWald 1994, Piper y Kulakow 1994, Cox et al. 2006, DeHaan y Van Tassel 2014).

Los patrones de asignación entre reproducción actual y almacenamiento para la siguiente estación de crecimiento pueden ser cruciales en las estrategias de la historia de vida de las plantas perennes. Por ejemplo, Lubbers y Lechowicz (1989) detectaron que hay un compromiso entre almacenamiento y reproducción actual en *Trillium grandiflorum* (perenne efímera), en la que la asignación de recursos a la reproducción actual tiene prioridad sobre la supervivencia y reproducción futura. Un comportamiento similar a *P. pinetorum*, bajo determinada disponibilidad ambiental (SV_2 - R_2). En otros experimentos con la hierba perenne, *Adonis ramosa* (Ranunculaceae) sometida a remoción durante dos estaciones de crecimiento consecutivas se observó, al igual que para *P. mendocina* que los tratamientos no influyeron en la supervivencia debido al efecto buffer de los recursos almacenados debajo del suelo. Sin embargo, la floración y el tamaño de la planta se vieron afectados después de los dos ciclos de remoción, es decir se encontró un período de 2 años de retraso a la restricción de la asimilación actual para las respuestas de crecimiento y floración. Este retraso en la respuesta de la performance reproductiva puede encontrarse en otras plantas herbáceas (Primack y Hall 1990, Ehrlén y van Groenendael 2001) y podría evidenciarse en plantas de *P. pinetorum* con más de dos ciclos de remoción.

En ambientes de tipo mediterráneo, los eventos reproductivos de las plantas perennes son seguidos por un período de dormancia (Latzel et al. 2014). Este período de dormancia permite recuperar el sistema de raíces, generalmente en otoño, y luego el rebrote de las hojas, ambos procesos aumentan el llenado de los órganos de almacenamiento (Vriet et al. 2012). La dormición del invierno es seguida por períodos

caracterizados por el consumo de carbohidratos almacenados, pero dentro de estos patrones generales la dinámica de la acumulación y utilización depende de cada especie (Matsuoka y Garcia 2011). Esto fue evidente en mis experimentos en los que las dos especies perennes que utilicé difirieron en la dinámica de uso y almacenamiento. Esta dinámica fue también modificada por la historia previa de acumulación de reservas y la disponibilidad actual de recursos (Figura 4.5).

El problema más importante en la domesticación surge porque, aunque se han desarrollado ideotipos perennes, hay críticas persistentes a la potencialidad de su rendimiento. La crítica más importante es que un ideotipo de alto rendimiento y perenne no ha sido encontrado en la naturaleza y podría no existir debido al compromiso entre la longevidad y producción de semilla (Denison 2012). La cuestión primaria es si esto es fisiológicamente posible, es decir el hecho de asignar recursos a la reproducción de una forma que le permita a las plantas rendimientos comparables al de las anuales, sin perder las funciones asociadas con la perennidad.

El análisis del rendimiento en las especies de *Physaria* confirmó la estrategia conservativa de *P. mendocina* y su diferencia con la otra especie perenne *P. pinetorum*, que tiende a comportarse como una planta anual en términos de asignación de biomasa. Los resultados del Capítulo IV aportan evidencia concreta de la posibilidad de evitar el compromiso entre rendimiento y perennidad descrito para algunas especies herbáceas perennes. Aunque en *P. mendocina* el compromiso entre reproducción y perennidad aparece muy claramente, algunas de las respuestas de *P. pinetorum* indican que el compromiso no es universal.

Hay evidencia que la relación entre rendimiento y perpetuación en las especies de *Physaria* puede ser manipulada por selección. González-Paleo et al. (2016), mostraron en *P. mendocina* que el incremento del rendimiento generado por selección produjo cambios en la distribución del rendimiento en el tiempo, concentrándolo durante el primer ciclo de cultivo. Además, encontraron que el 60% del total del rendimiento acumulado fue producido en el primer evento reproductivo. Este cambio en la distribución del rendimiento fue asociado a un incremento inicial del índice de cosecha y el número de frutos por planta, lo cual no fue sostenido durante los años subsecuentes.

En trabajos similares en mejoramiento de especies perennes para cultivo, trigo (*Triticum aestivum*, hibridado con pastos perennes) y arroz (*Oryza perennis*), Vico et al. (2016) demostraron que se pueden alcanzar rendimientos similares a las anuales, pero en este caso los aumentos en el rendimiento están realacionados a un aumento en la biomasa total. El modelo que los autores obtuvieron predice que la estación de crecimiento más larga de las especies perennes determina una mayor acumulación de biomasa, lo cual generaría rendimientos similares al de las especies anuales. Así, aumentos de cuatro a seis veces durante un periodo de dos años y la mitad de este incremento durante el tercer año, sería el aumento de biomasa necesario para que el trigo y arroz perenne logren acumular un rendimiento comparable al de sus variedades anuales. Estos valores son comparables con los observados en la tasa de crecimiento de cultivos de biomasa perennes tales como *Panicum virgatum* (switchgrass) y *Medicago sativa* (alfalfa). Estos cultivos ponen en evidencia que existe potencial genético para que las especies perennes alcancen un rendimiento de semillas comparable al de las especies anuales.

Para la especie perenne *P. mendocina*, Gonzalez-Paleo et al. (2016) encontraron que la selección para incrementar el rendimiento modificó los patrones acumulación de biomasa de raíz y reservas. Así, durante el 1^{er} y 2^{do} año de roseta las accesiones silvestres y seleccionadas incrementaron la asignación de biomasa a raíces y el contenido de hidratos de carbono. Sin embargo durante el periodo reproductivo del segundo ciclo, ambos grupos se gastaron el 50% de sus carbohidratos almacenados, y la recarga de las

reservas en las accesiones seleccionadas fue el 60% más bajo comparadas con las silvestres. Estas respuestas provocaron que las plantas de *P. mendocina* seleccionadas alcanzaran su tercer año de cultivo con una disminución de 50% en el contenido de hidratos de carbono en relación a las silvestres.

Trabajos realizados en mejoramiento de cereales perennes evidencian que las especies perennes pueden alcanzar rendimientos de semillas similares al de las anuales, más allá de sus primeros años de cultivo debido a mantener una mayor asimilación de CO₂ que su relativas anuales (Jaikumar et al. 2013). La posibilidad de evitar las relaciones de compromiso entre producción de semilla y perennidad es central en la discusión de la nueva teoría de domesticación de especies perennes.

En mi tesis los análisis de adquisición y partición de carbono frente a variación en la disponibilidad de asimilados en plantas con diferentes ciclos de vida (anuales y perennes) se realizaron desde dos puntos de vista. Por un lado, en relación a la supervivencia y longevidad de las plantas, y por otro, desde su asociación con el rendimiento y los caracteres que lo definen. Las diferencias entre especies de algunos atributos morfo-fisiológicos involucrados en la determinación de las estrategias de adquisición y uso de los recursos, pueden resumirse de la siguiente forma:

1) EXISTE UN PERIODO CRÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA Y EL RENDIMIENTO.

En general, las respuestas encontradas ante cambios en la disponibilidad de asimilados no estuvieron determinadas por el ciclo de vida anual o perenne. Sin embargo, frente a la variación en la disponibilidad ambiental durante la etapa vegetativa todas las especies disminuyeron su crecimiento y su rendimiento independientemente de su ciclo de vida. El efecto negativo, del sombreado está bien documentado (Fischer 1975, Fischer y Stockman 1980, 1986, Kemp y Whingwiri 1980, Stockman et al. 1983, Savin y Slafer 1991) y en general se concluye que el crecimiento en los cultivos, responde en proporción a la radiación incidente (Fischer 1985). Mi trabajo indica que estas especies silvestres o con mínima domesticación tienen respuestas acordes a lo previamente descripto. Así, la ganancia de carbono durante el periodo de crecimiento vegetativo puede ser relativamente más importante para el rendimiento que la fotosíntesis actual durante el período de llenado de grano, lo cual significa que la acumulación de reservas podría jugar un rol clave tanto en especies anuales como perennes de este género.

2) LAS RESERVAS PRE-ANTESIS SON IMPORTANTES PARA EL RENDIMIENTO.

Aún cuando las cuatro especies tuvieron un periodo crítico similar en pre-antesis, el efecto de la baja disponibilidad de radiación en ese período generó respuestas asignables al ciclo de vida. En las especies anuales la concentración de carbono almacenado en la raíz fue relativamente estable, comparada con las reservas de las especies perennes. En estas últimas se encontró un incremento de las reservas acompañado por una disminución notable en la asignación a biomasa (frente a una disminución de la radiación en etapa vegetativa). Estos resultados son evidencia de una estrategia conservativa en el uso del carbono adquirido, en la que el almacenamiento representa un destino jerárquico prioritario. Esta mayor inversión a reservas frente a condiciones de estrés, suele tener una relación directa con la capacidad de perpetuación inter-anual de las especies perennes (Stock et al. 1987, Lubbers y Lechowics 1989, Kobe 1997), aunque en otras perennes el estrés produce un evento de reproducción masiva (González-Paleo y Ravetta 2015).

Las diferencias encontradas en los patrones de asignación entre especies anuales y perennes de *Physaria*, podrían tener consecuencias si la disponibilidad ambiental es baja durante el periodo de floración. En los ambientes semi-áridos de tipo Mediterráneo

las plantas suelen afrontar dos limitantes, la sequía terminal desde floración a madurez y la posibilidad de heladas tardías que suelen coincidir con la aparición de botones florales. Las plantas perennes pueden utilizar sus reservas almacenadas durante pre-antesis para hacer frente a la baja disponibilidad de recursos en el periodo reproductivo, en cambio la menor acumulación encontrada en las especies anuales limitaría su capacidad para compensar durante la floración y fructificación. Esta menor capacidad de compensar pone a las plantas anuales en una situación de mayor riesgo y susceptibilidad, y genera la menor estabilidad del rendimiento encontrada en mis experimentos.

3) EXISTIERON DIFERENCIAS ENTRE LAS ESPECIES PERENNES EN LAS ESTRATEGIAS DE ASIGNACIÓN DE CARBONO Y EN LOS PERÍODOS CRÍTICOS.

Aún cuando la evidencia mostró que las especies perennes fueron más conservativas que las anuales hubo diferencias entre las dos perennes. En *P. pinetorum* se encontró un aumento de la biomasa y la tasa de crecimiento y sobre-compensación del rendimiento final cuando la relación fuente-destino fue alta. El incremento en el rendimiento estuvo asociado al alargamiento de la etapa reproductiva. Un número de mecanismos compensatorios se han encontrado en otras especies de Brassica (*B. campestris*, Biswas y Mandal 1987 y *B. Napus*, Rood et al. 1984); por ejemplo que la remoción temprana de las estructuras reproductivas retrasa la senescencia de las hojas y los tallos, lo cual puede contribuir a mantener la fotosíntesis por más tiempo durante el periodo de post-antesis (Noodén y Penney 2001). La extensión del periodo reproductivo y el incremento de la tasa fotosintética, fueron los mecanismos compensatorios que resultaron en un mayor número de frutos por planta y número de semillas por fruto en *P. pinetorum*.

También *P. pinetorum* fue la única especie, tanto en plantas de un solo ciclo de crecimiento como de dos ciclos de cultivo, que disminuyó el rendimiento y sus componentes, biomasa e IC, como consecuencia de estrés en etapa reproductiva. En los cultivos de grano la sensibilidad a la limitación de la fuente depende del momento en el cual se restringe la radiación (Jiang y Egli 1995, Egli y Bruening 2002, Kantolic et al. 2013). Los resultados encontrados en la perenne *P. pinetorum*, permiten determinar una mayor sensibilidad de esta especie durante el periodo reproductivo.

4) EVIDENCIA DE SOBRE-COMPENSACIÓN Y DIFERENCIAS ENTRE LAS DOS ESPECIES PERENNES EN LA JERARQUÍA DE LOS DESTINOS PARA LOS HIDRATOS DE CARBONO DE RESERVA.

Cuando la disponibilidad de hidratos de carbono fue alta, producto de dos ciclos consecutivos de remoción de botones florales (R_1 - R_2), tanto *P. pinetorum* como *P. mendocina* evidenciaron compensación con el aumento de la biomasa total al finalizar su segundo ciclo de crecimiento.

Sin embargo si bien ambas especies aumentaron la biomasa, la diferencia se encontró en que la sobre-compensación de la biomasa en *P. pinetorum* implicó el uso de las reservas almacenadas, y en *P. mendocina*, por el contrario, las reservas se vieron incrementadas al finalizar su segundo ciclo. El suministro extra de asimilados, provocado por la remoción de destinos (Wien y Tayo 1978), tuvo diferentes destinos jerárquicos en las dos perennes de *Physaria* redundando en diferentes estrategias de uso. Esta respuesta coincidió con respuestas a la disponibilidad hídrica en estas especies (González-Paleo y Ravetta 2011). *P. mendocina* frente a cambios en la disponibilidad ambiental tuvo como destino prioritario los órganos de almacenamiento (Estrategia conservativa). Esta estrategia ha sido observada en otras herbáceas perennes, en las que la pérdida de estructuras reproductivas se balancea con un aumento de las reservas en raíces tanto para el futuro crecimiento, como para hacer frente al nuevo ciclo reproductivo (Schupp et al.

1992; Famiani et al. 2000). Con una respuesta opuesta, *P. pinetorum* presentó una estrategia de priorización del crecimiento (Estrategia más adquisitiva), evidenciada también por un compromiso, aunque la asignación de recursos a crecimiento actual tiene prioridad sobre la supervivencia y reproducción futura. Este compromiso entre almacenamiento y reproducción, presente en *P. pinetorum* cuando fue sometida a dos ciclos de remoción, cuestiona la viabilidad de la domesticación de los granos perennes (Denison 2012).

5) EL NÚMERO DE FRUTOS POR PLANTA ES UN CARÁCTER IMPORTANTE EN LA DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO.

Frente a la variación en la disponibilidad de asimilados los cambios en el rendimiento fueron debidos principalmente a la variación en el número de frutos por planta. El análisis de los componentes del rendimiento se ha utilizado para diseñar programas de mejora eficientes (Egli 1998). La selección para incrementar un componente no siempre resulta en un incremento del rendimiento debido al efecto compensatorio que existe entre ellos (Millares y Slafer 1995). En este trabajo se encontraron efectos compensatorios entre componentes del rendimiento frente a la variación en la disponibilidad de asimilados. Por ejemplo, se detectó una relación directa negativa entre el número de semillas por fruto y el peso de la semilla, y una relación indirecta negativa entre el número de frutos por planta y el peso de la semilla a través del número de semillas por fruto. Sin embargo, este efecto fue menos relevante para el rendimiento de semilla que el efecto directo del número de frutos por planta. Finalmente, a pesar del efecto compensatorio se encontró que el número de frutos por planta es un buen predictor del rendimiento en *Physaria* y que podría ser usado como un criterio de selección indirecto en programas de mejoramiento.

RELEVANCIA Y DIRECCIONES FUTURAS

En torno al debate actual sobre las posibilidades de desarrollar nuevos cultivos perennes para mantener la sustentabilidad de la agricultura (Pimentel et al. 2012), hay autores que han sugerido que el complejo de rasgos comúnmente observados que han acompañado a la domesticación de nuestros cultivos podría ser extendido para incluir rasgos directamente relevantes en el ajuste de la planta en su ambiente silvestre (Milla et al. 2015). Se ha propuesto que algunas plantas perennes silvestres podrían lograr un equilibrio entre el mantenimiento de la perennidad, la tolerancia a situaciones de estrés y la producción de grandes descendencias (González-Paleo y Ravetta 2011). Sin embargo, la escasez de información sobre el efecto que ejerce la selección sobre el conjunto de estos procesos ha limitado el desarrollo de cultivos herbáceos perennes (Jaikumar et al. 2013, Vico et al. 2016). Algunos estudios han buscado estas respuestas sólo indirectamente (Jackson y Jackson 1999; González-Paleo y Ravetta 2011).

Los resultados de esta tesis demuestran la existencia de compromisos entre longevidad y futura reproducción especialmente en la especie perenne *Physaria pinetorum* la cual, en general, presentó siempre una estrategia que depende de la disponibilidad de recursos y que es análoga a la encontrada en las especies anuales de *Physaria*. En términos de la domesticación de especies productoras de aceite de semilla, tanto las especies anuales, del género, como la perenne *P. pinetorum* serían adecuadas para ambientes estables pero no para ambientes con variación inter-anual en la disponibilidad de recursos. En cambio *P. mendocina* combina una producción moderada de biomasa y producción de semilla propia de una estrategia conservativa. En este contexto ambiental esta especie sería el ideotipo más adecuado de cultivo.

Se propone que la presencia de las reservas almacenadas durante el período de pre-antesis y la estabilidad en los componentes del rendimiento, es decir una estrategia de tipo conservativa en el uso de los recursos, deberían ser utilizados como criterios

adicionales al rendimiento de semilla, contenido y calidad del aceite, que son los atributos comúnmente empleados en el proceso de selección durante la domesticación de nuevos cultivos (Thompson y Dierig 1994, Dierig et al. 1993).

Otro de los resultados que muestra mi tesis, es sobre-compensación del rendimiento debido a la remoción de yemas florales. Hay evidencia que demuestra que los cambios en la distribución del rendimiento a través de los años provocados por selección encontrados en otros cultivos, han sido relacionados a los patrones de asignación de carbono y al pool de meristemas disponibles (Clarke et al. 2013). De esta manera ha sido sugerido que en plantas con un limitado número de meristemas y con una mayor proporción de estos diferenciados en flores en el primer evento reproductivo, sólo un número limitado de meristemas principales puede contribuir a la futura reproducción (Geber 1990, Huber y Dierig 2001). Para las especies de *Physaria*, la causa de la caída en el rendimiento a través de los años se desconoce y es necesario que sea investigado.

En este sentido, evaluar el efecto de la remoción temprana de primordios florales sobre la duración de la etapa vegetativa, del área foliar verde y su relación con el rendimiento en especies co-genéricas anuales y perennes sería una línea de investigación a futuro, la cual, abriría una ventana más amplia para la comprensión de la determinación del rendimiento. Sin embargo por lo expuesto anteriormente las especies perennes del género pueden ver comprometida su longevidad. Por esta razón es necesario incluir dentro de los futuros trabajos la investigación sobre los umbrales de almacenamiento que aseguren la longevidad de la planta y la estabilidad del rendimiento.

Bibliografía

- Aerts, R, Chapin, F. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*, 30:1-67.
- Aragón, C, Méndez, M, Escudero, A. 2009. Survival costs of reproduction in a short-lived perennial plant: live hard die young. *American Journal of Botany*, 96: 904–911.
- Arbuckle, J, Wothke, W. 1999. AMOS. 4.0 User`s Guide. SPSS. Small Walters, Chicago.
- Ashraf, M, Bashir, A. 2003. Relationship of photosynthetic capacity at the vegetative stage and during grain development with grain yield of two hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in yield. *European Journal of Agronomy*, 19:277–287.
- Barbaroux, C, Breda, N. 2002. Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, 22: 1201–1210.
- Bates, D. 1985. Plant utilization: patterns and prospects. *Economic Botanic*, 39: 241-256.
- Bell, L, Byrne, F, Ewing, M, Wade, L. 2008. A preliminary whole-farm economic analysis of perennial wheat in an Australian dryland farming system. *Agricultural Systems*, 96: 166-174.
- Binding, F, Musgrave, R, Fisher, R. 1977. Contribution of stored pre-anthesis assimilates to grain yield in wheat and barley. *Nature*, 270: 431-433.
- Bingham, I, Blake, J, Foulkes, M, Spink, J. 2007. Is barley yield in the UK sink limited? II Factors affecting potential grain size. *Field Crops Research*, 101: 212 – 220.
- Biswas, A, Mandal, S. 1987. Regulation on monocarpic senescence of *Brassica campestris* by the developing pods. *Plant Physiology*, 71: 89-94.
- Black, Ch. 1984. Development of News Crops: Needs, Procedures, Strategies and Options. Cast, Report N° 102.
- Blum, A, Sinmena, B, Mayer, J, Golan, G, Shpiler, L. 1994. Stem reserve mobilization supports wheat grain filling under heat stress. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45: 771-781.
- Blum, A. 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization. *Euphytica*, 100: 77–83.
- Blum, A. 2005. Drought resistance water-use efficiency and yield potential-are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research*, 56: 1159-1168.
- Borrás, L, Slafer, G, Otegui, M. 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research*, 86: 131–146.
- Brummer, C, Barber, W, Collier, S, Cox, T, Johnson, R, Murray, S. 2011. Plant breeding for harmony between agriculture and the environment. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9:561–568.
- Buttery, B, Buzzell, R. 1998. Soybean leaf nitrogen in relation to photosynthetic rate and yield. *Canadian Journal of Plant Science*, 68: 793-795.
- Canadell, J, López-Soria, L. 1998. Lignotuber reserves support regrowth following clipping of two Mediterranean shrubs. *Functional Ecology*, 12:31–38.
- Canham, C, Kobe, K, Latty, E, Chazdon, R. 1999. Interspecific and intraspecific variation in tree seedling survival: effects of allocation to roots versus carbohydrate reserves. *Oecologia*, 121: 1-11.
- Cárcova, J, Abeledo, G, y López Pereira, M. 2004. Análisis de la generación del rendimiento: crecimiento, partición y sus componentes. Pp. 75–98 en Satorre, E, Benech, A, Slafer, A, de la Fuente, E, Miralles, D, Otegui, M, y Savin, R. (eds.),

Producción de Granos Bases funcionales para su manejo. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

- Cassman, K, Dobermann, A, Walters, D, Yang, H. 2003. Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environmental quality. *Annual Review of Environment and Resource*, 28:315–58.
- Chapin, F, Autumn, K, Pugnaire, F. 1993. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *American Naturalist*, 142: 78-92.
- Chapin, F, Schulze, E, Mooney, H. 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21: 423-447.
- Chapin, F. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 233-260.
- Chiarello, N, Roughgarden, J. 1984. Storage allocation in seasonal races of a grassland annual: optional vs. actual allocation. *Ecology*, 65: 1290-1301.
- Clarke, P, Lawes, M, Midgley, J, Lamont, B, Ojeda, F, Burrows, G, Enright, N, Knox, E. 2013. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. *New Phytologist*, 197:19–35.
- Cockshull, K. 1982. Disbudding and its effect on dry matter distribution in *Chrysanthemum morifolium*. *Horticultural Science*, 57: 205- 207.
- Cox, T, Bender, M, Picone C, Van Tassel, D, Holland, J, Brummer, E, Zoeller, B, Paterson, A, Jackson, W. 2002. Breeding perennial grain crops. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21: 59-91.
- Cox, T, Glover, J, Van Tassel, D, Cox, C, DeHaan, L. 2006. Prospects for developing perennial grain crops. *BioScience*, 56:649-659.
- Cox, T, Van Tassel, D, Cox, C, DeHaan, L. 2010. Progress in breeding perennial grains. *Crop and Pasture Science*, 61:513-521.
- Cox, T, Wood, D. 1999. The nature and role of crop biodiversity. Pp. 35-57 en Wood, D. y Lenne, J. (eds.) *Agrobiodiversity: Characterization, Utilization, and Management*. Editorial CABI, UK.
- Davies, C, Waugh, D, Lefroy, E. 2005. Variation in seed yield and its components in the Australian native grass *Microlaena stipoides* as a guide to its potential as a perennial grain crop. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56: 309–316.
- DeHaan, L, Van Tassel, D, Anderson, J, Asselin, S, Barnes, R, Baute, G, Cattani, D, Culman, S, Dorn, K, Hulke, B, Kantar, M, Larson, S, Marks, M, Miller, A, Poland, J, Ravetta, D, Rude, E, Ryan, M, Wyse, D, Zhang, X. 2016. A Pipeline Strategy for Grain Crop Domestication. *Crop Science*, 56: 917–939.
- DeHaan, L, Van Tassel, D, Cox, T. 2005. Perennial grain crops: A synthesis of ecology and plant breeding. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 20: 5–14.
- DeHaan, L, Van Tassel, D. 2014. Useful insights from evolutionary biology for developing perennial grain crops. *American Journal of Botany*, 101: 1801–1819.
- del Valle, H, Elissalde, N, Gagliardini, D, Milovich J. 1998. Status of desertification in the Patagonian region: assessment and mapping from satellite imagery. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 55: 319-324.
- Denison, R. 2012. *Darwinian agriculture: How understanding evolution can improve agriculture*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Diepenbrock, W. 2000. Yield analysis of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Field Crops Research*. 67: 35–49.
- Dierig, D, Crafts-Brandner, S. 2011. The relationship of temperature to plant morphology of *lesquerella*. *Crop Science*, 51: 2165-2173.

- Dierig, D, Salywon, A, Tomasi, P, Dahlquist, G, Isbell, T. 2006. Variation of seed oil composition in parent and S₁ generations of *Lesquerella fendleri* (Brassicaceae). *Industrial Crops and Products*, 24: 274–279.
- Dierig, D, Thompson, A, Nakayama, F. 1993. *Lesquerella* commercialization efforts in the United States. *Industrial Crops and Products*, 1: 289-293.
- Dierig, D, Thompson, A, Rebman, J, Kleiman R, Phillips, B. 1996. Collection and evaluation of new *Lesquerella* and *Physaria* germplasm. *Industrial Crops and Products*, 5: 53–63.
- Dierig, D, Tomasi, P, Salywon, A. 2004. Improvement in hydroxy fatty acid seed oil content and other traits from interspecific hybrids of three *Lesquerella* species: *Lesquerella fendleri*, *L. pallida*, and *L. lindheimeri*. *Euphytica*, 139:199–206.
- Dina, S, Klikoff, L. 1974. Carbohydrate cycle of *Plantago insularis* var. *fastigiata*, a winter annual from the Sonoran desert. *Botanical Gazette*, 135:13–18.
- Egli, D, Bruening, W. 2002. Source–sink relationships, seed sucrose levels and seed growth rates in soybean. *Annals of Botany*, 88: 235–242.
- Egli, D, Leggett, J. 1976. Rate of dry matter accumulation in soybean seeds with varying source-sink ratios. *Agronomy Journal*, 68: 371-374.
- Egli, D, Zhen-wen, Y. 1991. Crop growth rate and seeds per unit area in soybean. *Crop Science*, 31: 439-442.
- Egli, D. 1993 Cultivar maturity and potential yield of soybean. *Field Crops Research*, 32: 147-158.
- Egli, D. 1998. Seed biology and the yield of grain crops. CAB International, Wallingford, UK.
- Ehrlén J, van Groenendael J. 2001. Storage and the delayed costs of reproduction in the understory perennial *Lathyrus vernus*. *Journal of Ecology*, 89: 237 – 246.
- Evans, J, Poorter, H. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment*, 24: 755–767.
- Evans, J, Terashima, I. 1988. Photosynthetic characteristics of spinach leaves grown with different nitrogen treatments. *Plant Cell Physiology*, 29:157-165.
- Evans, J. 1996. Developmental constraints on photosynthesis: effects of light and nutrition. Pp. 281–304 en Baker, N. (ed.) *Photosynthesis and the environment*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands.
- Famiani, F, Proietti, P, Palliotti, A, Ferranti, F, Antognozzi, E. 2000. Effects of leaf to fruit ratios on fruit growth in chestnut. *Scientia Horticulturae*, 85: 145–152.
- Ferraro, D, Oesterheld, M. 2002. Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos*, 98:125–133.
- Fischer, R, Stockman, Y. 1980. Kernel number per spike in wheat (*Triticum aestivum* L.): Responses to preanthesis shading. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7: 169-180.
- Fischer, R, Stockman, Y. 1986. Increased kernel number in Norin 10-derived dwarf wheat: Evaluation of the cause. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13: 767-784.
- Fischer, R. 1975. Yield potential in dwarf spring wheat and the effect of shading. *Crop Science*, 15: 607-613.
- Fischer, R. 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *Journal of Agricultural Science*, 105: 447-461.
- Friebe, B, Jiang, J, Raup, W, J, McIntosh, R, Gill, B. 1996. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: Current status. *Euphytica*, 91: 59–87.

- Fu, J, Huang, Z, Wang, Z, Yang, J, Zhang, J. 2011. Pre-anthesis non-structural carbohydrate reserve in the stem enhances the sink strength of inferior spikelets during grain filling of rice. *Field Crops Research*, 123: 170–182.
- Gallagher, J, Biscoe, P, Scott, P, 1975. Barley and its environment. V. Stability of grain weight. *Journal of Applied Ecology*, 12: 319–336.
- García, M, Ehrlén, J. 2002. Reproductive effort and herbivore timing in a perennial herb: fitness components at the individual and population levels. *American Journal of Botany*, 89: 1295–1302.
- Garnier, E, Laurent, G. 1994. Leaf anatomy, specific mass and water content in congeneric annual and perennial grass species. *New Phytologist*, 128: 725-736.
- Garnier, E. 1992. Growth analysis of congeneric annual and perennial grass species. *Journal of Ecology*, 80: 665-675.
- Gaucher, C, Gougeon, S, Mauffette, Y, Messier, C. 2005. Seasonal variation in biomass and carbohydrate partitioning of sugar maple (*Acer saccharum*) and yellow birch (*Betula alleghaniensis*) seedlings. *Tree Physiology*, 25:93–100.
- Geber, M. 1990. The cost of meristem limitation in *Polygonum arenastrum*: negative genetic correlations between fecundity and growth. *Evolution*, 44: 799-819.
- Gifford, R, Evans, L. 1981. Photosynthesis, carbon partition and yield. *Annual Review of Plant Physiology*, 32: 485-509.
- Giménez, C, Orgaz, F, Fereres, E. 1997. Productivity in Water-Limited Environments: Dryland Agricultural Systems. Pp. 457-490 en “Ecology in Agriculture” (eds.) Academic Press, New York.
- Glover, J, Reganold, J, Bell, W, Borevitz, J, Brummer, E, Buckler, E, Cox, C, Cox, T, Crews, T. 2010. Increased Food and Ecosystem Security via Perennial grains. *Science*, 328: 1638–1639.
- González-Paleo, L, Ravetta, D. 2011 a. Indirect changes associated with a selection program for increased seed yield in wild species of *Lesquerella* (*Brassicaceae*): Are we developing a phenotype opposite to the expected ideotype? *Industrial Crops and Products*, 34: 1372–1380.
- González-Paleo, L, Ravetta, D. 2011 b. Relationships between reproductive output, morpho-physiological traits, and lifespan in *Lesquerella* (*Brassicaceae*). *Industrial Crops and Products*, 34: 1372–1380.
- González-Paleo, L, Ravetta, D. 2015. Carbon acquisition strategies un coupled from predictions derived from species life-cycle. *Flora*, 212: 1–9.
- González-Paleo, L, Vilela, A, Ravetta, D. 2016. Back to perennials: Does selection enhance trade-offs between yield and longevity? *Industrial Crops and Products*, 91:272–278
- González-Paleo, L. 2005. Respuesta a la selección por rendimiento de cuatro especies del género *Lesquerella*. Tesis de grado. Universidad Nacional de la Patagonia "San Juan Bosco".
- González-Paleo, L. 2010. Cambios en atributos eco-fisiológicos asociados a la supervivencia, la perennidad y la estabilidad del rendimiento, resultantes del incremento del rendimiento por selección en especies anuales y perennes de *Lesquerella* (*Brassicaceae*). Tesis doctoral. Facultad de Agronomía-Universidad Buenos Aires.
- Grime, J. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist*, 111: 1169-1194.
- Hanson, H. 1917. Leaf structure as related to environment. *American Journal of Botany*, 4: 533–560.

- Haro, R, Dardanella, J, Otegui, M, Collino D. 2008. Seed yield determination of peanut crops under water deficit: Soil strength effects on pod set, the source-sink ratio and radiation use efficiency. *Field Crops Research*, 109: 24-33.
- Harper, J, Ogden, J. 1970. The reproductive Strategy of higher Plants: I. The Concept of Strategy with Special Reference to *Senecio vulgaris* L. *Journal of Ecology*, 58: 681-698.
- Harper, J. 1967. A Darwinian approach to plant ecology. *Journal of Ecology*, 55: 247-270.
- Harrison, M, Evans, J, Dove, H, Moore, A. 2011 Dual-purpose cereals: can the relative influences of management and environment on crop recovery and grain yield be dissected? *Crop and Pasture Science*, 62: 930-946.
- Hautekeete, N, Piquot, Y, Van Dijk, H. 2001. Investment in survival and reproduction along a semelparity-iteroparity gradient in the Beta species complex. *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 795-804.
- Hegazy, A, Ismail, S. 1992. Autecology of the desert monocarpic *Rumex cyprius* as influenced by water treatment. *Acta Oecologica*, 13: 193-202.
- Hegazy, A. 1990. Growth, phenology, competition and conservation of two desert hydrochastic annuals raised under different watering regimes. *Journal of Arid Environments*, 19: 85-94.
- Hegazy, A. 1992. Age-specific survival, mortality and reproduction and prospects for conservation of *Limonium delicatulum*. *Journal of Applied Ecology*, 29: 549-557.
- Hikosaka, K, Terashima, I. 1996. Nitrogen partitioning among photosynthetic components and its consequence in sun and shade plants. *Functional Ecology*, 10: 335-343.
- Hoffman, W, Poorter, H. 2002. Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany*, 80: 37-42.
- Horibata, S, Shigeaki, Hasegawa, F, Kudo, G. 2007. Cost of Reproduction in a Spring Ephemeral Species, *Adonis ramose* (Ranunculaceae): Carbon Budget for Seed Production. *Annals of Botany*, 3: 565-571.
- Horvitz, C, Schemske, D. 1988. Demographic cost of reproduction in a neotropical herb: an experiment field study. *Ecology*, 69: 1741-1745.
- Huber, H, Doring, H. 2001. No long-term cost of meristem allocation to flowering in *stoloniferous Trifolium* species. *Evolutionary Ecology*, 14: 731-748.
- Huhta, A, Hellström, K, Rautio, P, Tuomi, J. 2003. Grazing tolerance of *Gentianella amarelle* and other monocarpic herbs: why is tolerance highest at low damage levels? *Plant Ecology*, 166:49-61.
- Hulke, B, Watkins, E, Wyse, D, Ehlke, N. 2008. Freezing tolerance of selected perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) accessions and its association with field winter hardiness and turf traits. *Euphytica*, 163: 131-141.
- Hulke, B, Wyse, D. 2008. Using interspecific hybrids with *H. annuus* L: Proceedings of the 17th International Sunflower Conference. Cordoba, Spain.
- Hunsaker ,D, Nakayama, F, Dierig, D, Alexander, W. 1998. *Lesquerella* seed production: Water requirement and management. *Industrial Crops and Products*, 8: 167-182.
- Hunt, R, Causton, D, Shipley, B, Askew, A. 2002. A Modern Tool for Classical Plant Growth Analysis. *Annals of Botany*, 90: 485-488.
- Hunt, R. y Lloyd, P. 1987. Growth and partitioning. Pp. 235-50 en Rorison, I. Grime, J. Hendry, G. y Lewis, D. (eds.) *Frontiers of Comparative Plant Ecology*. Academia Press, London.
- Iwasa, Y, Kubo, T. 1997. Optimal size of storage for recovery after unpredictable disturbance. *Evolutionary Ecology*, 11: 41-65.

- Jackson, L, DeWald, C. 1994. Predicting evolutionary consequences of greater reproductive effort in *Tripsacum dactyloides* a perennial grass. *Ecology*, 75: 627–641.
- Jackson, W, y Jackson, L. 1999. Developing high seed yielding perennial polycultures as a mimic of mid-grass prairie. Pp. 1-37 en LeFroy, R, et al. (eds.) *Agriculture as a Mimic of Natural Ecosystems*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Jackson, W. 2002. Natural systems agriculture: a truly radical alternative. *Agriculture Ecosystems Environment*, 88: 111–117.
- Jaikumar, N, Snapp, S, Sharkey, T. 2013. Life history and resource acquisition: photosynthetic traits in selected accessions of three perennial cereal species compared with annual wheat and rye. *American Journal of Botany*, 100: 2468–2477.
- James, J. 2008. Effect of soil nitrogen stress on the relative growth rate of annual and perennial grasses in the intermountain west. *Plant and Soil Journal*, 310: 201-210.
- Janecek, S, Bartusková, A, Bartos, M, Altman, J, de Bello, F, Dolezal, J, Klimesová, J. 2015. Effects of disturbance regime on carbohydrate reserves in meadow plants. *AoB Plants*, 7 (plv123).
- Jiang, H, Egli, D. 1995. Soybean seed number and crop growth rate during flowering. *Agronomy Journal*, 87: 264–267.
- Jones, O, Scheuerlein, A, Salguero-Gómez, R, Camarda, C, Schaible, R, Casper, B, Dahlgren, J, Ehrlén, J, García, M, Menges, E, Quintana-Ascencio, P, Caswell, H, Baudisch, A, Vaupel, J. 2014. Diversity of ageing across the tree of life. *Nature*, 505: 169-173.
- Jordan, D, Hunt, C, Cruickshank, A, Borrell, A, Henzell, R. 2012. The relationship between the stay-green trait and grain yield in elite sorghum hybrids grown in a range of environments. *Crop Science*, 52: 1153–1161.
- Kantar, M, Betts, K, Michno, J, Luby, J, Morrell, P, Hulke, B, Stupar, R, Wyse, D. 2014. Evaluating an interspecific *Helianthus annuus* x *Helianthus tuberosus* population for use in a perennial sunflower breeding program. *Field Crops Research*, 155:254–264.
- Kantar, M, Tyl, C, Dorn, K, Zhan, X, Jungers, J, Kaser, J, Schendel, R, Eckberg, J, Runck, B, Bunzel, M, Jordan, N, Stupar, R, Marks, D, Anderson, J, Jhonson, G, Sheaffer, C, Shoenfuss, T, Isamel, B, Heimpel, G, Wyse, D. 2016. Perennial Grain and Oilseed Crops. *Annual Review of Plant Biology*, 67: 703-29.
- Kantolic, A, Slafer, G, Peralta, G. 2013. Seed number responses to extended photoperiod and shading during reproductive stages in indeterminate soybean. *European Journal of Agronomy*, 51:91– 100.
- Kao, C. 1980, Retardation of leaf senescence by pod removal and low temperature in intact soybean plants. *Proceedings of the National Science Council*, 4: 415-417.
- Kemp, D, Whingwiri, E. 1980. Effect of tiller removal and shading on spikelet development and yield components of the main shoot of wheat and on the sugar concentration on the ear leaf. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7: 501-510.
- Kim, W, Seong, R, Minor, R. 1993. Effects of leaf and pod removal on photosynthesis and assimilate partition in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 38:159-165.
- Kleiman, R. 1990. Chemistry of new industrial oilseed crops In “New Crops”. Pp. 196-202 en Janik, J. y Simon, J. (eds.) Timber Press, Portland.
- Kobe, R, Coates, K. 1997. Models of sapling mortality as function of growth to characterize interspecific variation in shade tolerance of eight tree species of

- northwestern. British Columbia. Canadian Journal of Forest Research, 27: 227-236.
- Kobe, R, Iyer, M, Walters, M. 2010. Optimal partitioning theory revisited: nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen. Ecology, 91:166–179.
- Komor, E. 2000. The physiology of sucrose storage in sugarcane. Pp. 35–54 en Gupta, A. y Kaur, N. (eds.) Carbohydrate Reserves in Plants - Synthesis and Regulation. Elsevier Science, Amsterdam.
- Korner, C. 2003. Carbon limitation in trees. Journal of Ecology, 91: 4-17.
- Kumudini, S. 2002. Trial and Tribulations: a review of the role of assimilation supply in soybean genetic yield improvement. Field Crops Research, 75: 211-222.
- Lambers, H, Chapin, F, Pons, T. 1998. Plant physiological ecology. Springer, New York
- Lambers, H, Poorter, H. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: A search for physiological causes and ecological consequences. Advances in Ecological Research, 23: 187-261.
- Larcher, W, Thomaser-Thin, W. 1988. Seasonal-changes in energy content and storage patterns of Mediterranean *sclerophylls* in a northernmost habitat. Acta Oecologica, 9:271–283.
- Latzel, V, Janecek, S, Hajek, T, Klimesova, J. 2014. Biomass and stored carbohydrate compensation after above-ground biomass removal in a perennial herb: does environmental productivity play a role? Folia Geobotanica, 49:17–29.
- Latzel, V, Klimešová, J. 2009. Fitness of resprouters versus seeders in relation to nutrient availability in two *Plantago* species. Acta Oecologica, 35:541–547.
- Latzel, V, Malíková, L, Klimešová, J. 2011. Compensatory growth of *Euphorbia peplus* regenerating from a bud bank. Botany, 89:313–321.
- Li, Y, Johnson, D, Su, Y, Cu, J, Zhang, T. 2005. Specific leaf area and dry matter content of plants growing in sand dunes. Botanical bulletin of Academia Sinica, 46: 127-134.
- Loveys, B, Scheurwater, I, Pons, T, Fitter, A, Atkin, O. 2002. Growth temperature influences the underlying components of relative growth rate: an investigation using inherently fast- and slow-growing plant species. Plant, Cell & Environment, 25:975–988.
- Lubbers, A, Lechowics, M. 1989. Effects of leaf Removal on reproductions vs. Belowground Storage in *Trillium Grandiflorum*. Ecology, 70: 85-96.
- Lubbers, A. 1982. Spatial and temporal variation in the reproductive characteristic of *Thalictrum thalictroides* (L) Eames and Boivin, a forest herbaceous perennial. North Carolina, USA
- Marañón, T, Grubb, P. 1993. Physiological basis and ecological significance of the seed size and relative growth rate relationship in Mediterranean annuals. Functional Ecology, 7: 591-599.
- Marquis, R. 1992. A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (*Piperaceae*). Ecology, 73: 143–152.
- Marriott, H. 1992. Field Survey for *Aster mollis*, *Astragalus barri*, and *Lesquerella arenosa* var. *argillosa* in northeast and central Wyoming. Unpublished report prepared for the Bureau of Land Management, Casper District by Wyoming Natural Diversity Database, The Nature Conservancy, Laramie, WY.
- Martínková, J, Klimešová, J, Mihulka, S. 2004. Resprouting after disturbance: an experimental study with short-lived monocarpic herbs. Folia Geobotanica, 39:1–12.

- Masnatta, W, Ravetta, D. 2011. Seed-yield and yield components response to source–sink ratio in annual and perennial species of *Lesquerella* (Brassicaceae). *Industrial Crops and Products*, 34: 1393–1398.
- Matloobi, M, Baille A, Gonzalez-Real, M, Gutierrez, R. 2008. Effects of Sink Removal on Leaf Photosynthesis Attributes of *Rose Flower* Shoots (*Rosa hybrida* L., cv. Dallas), *Scientia Horticulturae*, 118: 321–327.
- Matsuoka, S, Garcia, A. 2011. Sugarcane underground organs: going deep for sustainable production. *Tropical Plant Biology*, 4: 22–30.
- McLaughlin, S. 1985. Economic prospects for new crops in the southwestern United States. *Economic Botany*, 39: 473–481.
- McLaughlin, S. 2003. Removing flower stalks increases leaf biomass production in *Hesperaloe funifera* (Agavaceae). *Journal of Arid Environments*, 55: 143–149.
- McPherson, K, Williams, K. 1998. The role of carbohydrate reserves in the growth, resilience, and persistence of cabbage palm seedlings (*Sabal palmeto*). *Oecologia*, 117: 460–468.
- Medek, D, Ball, M, Schortemeyer, M. 2007. Relative contribution of leaf area ratio and net assimilation rate to change in growth rate depend on growth temperature: comparative analysis of subantarctic and alpine grasses. *New Phytologist*, 175: 290–300.
- Meletiou-Christou, M, Rhizopoulou, S, Diamantoglou, S. 1992. Seasonal changes in carbohydrates, lipids and fatty acids of two Mediterranean dimorphic *phrygana* species. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 188: 247–259.
- Meyer, K, Hellwig, F. 1997. Annual cycle of starch content in rhizomes of the forest geophytes *Anemone nemorosa* and *Aegopodium podagraria*. *Flora*, 192: 335–339.
- Meyer, R, Duval, A, Jensen, H. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist*, 196: 29–4.
- Miceli, F, Crafts-Brandner, S, Egli, D. 1995. Physical restriction of pod growth alters development of soybean plants. *Crop Science*, 35: 1080–1085.
- Milla, R, Osborne, C, Turcotte, M, Violle, C. 2015. Plant domestication through an ecological lens. *Trends in Ecology & Evolution*, 30: 463–469.
- Miller, A, Gross, B. 2011. From forest to field: perennial fruit crop domestication. *American Journal of Botany*, 98:1389–414.
- Miralles, D, Slafer, G. 1995. Individual grain weight responses to genetic reduction in culm length in wheat as affected by source-sink manipulation. *Field Crops Research*, 43:55–66.
- Moffat, A. 1996. Higher yielding perennials point the way to new crops. *Science*, 274: 1469–1470.
- Mondal, M, Brun, W, Brenner, M. 1978. Effects of sink removal on photosynthesis and senescence in leaves of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Plant Physiology*, 61: 394–397.
- Mondolot, L, Marlas, A, Barbeau, D, Gargadennec, A, Pujol, B, McKey, D. 2008. Domestication and defence: Foliar Tannins and C/N ratios in Cassava and close wild relative. *Acta Oecologica*, 34: 147–154.
- Mooney, H, Billings, W. 1960. The annual carbohydrate cycle of alpine plants as related to growth. *American Journal of Botany*, 47: 564–598.
- Mooney, H, Chu, C, Bullock, S, Robichaux, R. 1992. Carbohydrate, water and nitrogen storage in vines of a tropical deciduous forest. *Biotropica*, 24: 134–139.
- Myers, J, Kitajima, K. 2007. Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. *Journal of Ecology*, 95:383–395.

- Nanda, R, Bhargava, S, Tomar, D, Rawson, H. 1996. Phenological development of *Brassica campestris*, *B. juncea*, *B. napus* and *B. carinata* grow in controlled environments and from 14 sowing dates in the field. *Field Crops Research*, 46: 93–103.
- Newell, E, Mulkey, S, Wright, S. 2002. Seasonal patterns of carbohydrate storage in four tropical tree species. *Oecologia*, 131: 333–342.
- Niinemets, Ü, Kull, O, Tenhunen, J. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology*, 18: 681–696.
- Noodén, L, Penney, J. 2001. Correlative controls of senescence and plant death in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *Journal of experimental botany*, 364: 2151–2159.
- Noquet, C, Avice J, Rossato, L, Beauclair, P, Henry, M, Ourry, A. 2004. Effects of altered source–sink relationships on N allocation and vegetative storage protein accumulation in *Brassica napus* L. *Plant Science*, 166: 1007–1018.
- Obeso, J, Grubb, P. 1994. Interactive effects of extent and timing of defoliation and nutrient supply on reproduction in a chemically protected annual *Senecio vulgaris*. *Oikos*, 71: 506–514.
- Obeso, J. 1993. Does defoliation affect reproduction in herbaceous perennials and woody plants in different ways? *Functional Ecology*, 7: 150–155.
- Obeso, J. 2002. The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*, 155: 321 – 348.
- Onoda, Y, Schieving, F, Anten, R. 2008. Effects of light and nutrient availability on leaf mechanical properties of *Plantago major*: a conceptual approach. *Annals of Botany*, 101: 727–736.
- Oppenheimer, H. 1960. Adaptation to drought: xerophytic. *Arid Zone Research*, 15: 105–138.
- Ozten, D. 1977. Life forms of three *Senecio* species in relation to accumulation and utilization of non-structural carbohydrates. *Acta Botanica Neerlandica*, 26:401–409.
- Palta, J, Kobata, T, Turner, N. 1994. Carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits. *Crop Science*, 34: 118–124.
- Passioura, J. 2012. Phenotyping for drought tolerance in grain crops: when is it useful to breeders? *Functional Plant Biology*, 39: 851–859.
- Patrick, J. 1988. Assimilate partitioning in relation to crop productivity. *Hortscience*, 23: 33–40.
- Pimentel, D, Cerasale, D, Stanley, R, Perlman, R, Newman, E, Brent, L, Mullan, A, Tai-I Chang, D. 2012. Annual vs. perennial grain production. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 161: 1-9.
- Pimm, S. 1997. In search of perennial solutions. *Nature*, 389: 126-127.
- Piper, F, Reyes-Diaz, E, Corcuera, L, Lusk, C. 2009. Carbohydrate storage survival, and growth of two evergreen *Nothofagus* species in two contrasting light environments. *Ecological Research*, 24: 1233–1241.
- Piper, J, Kulakow, P. 1994. Seed yield and biomass allocation in *Sorghum bicolor* and F1 and backcross generations of *S. bicolor* × *S. halepense* hybrids. *Canadian journal of botany*, 72: 468–47.
- Piper, J. 1992. Size structure and seed yield over 4 years in an experimental *Cassia marilandica* (*Leguminosae*) population. *Canadian Journal of Botany*, 70: 1324–1330.
- Ploschuck, E, Windauer, L, Ravetta, D. 2001. Potential value of traits associated with perennial habit in the development of new oil-seed crops for arid lands. A

- comparison of *Lesquerella fendleri* and *L. mendocina* subjected to water stress. *Journal of Arid Environments*, 47: 373-386.
- Ploschuk, E, Cerdeiras, G, Windauer, L, Dierig, A, Ravetta, D. 2003. Development of alternative *Lesquerella* species in Patagonia (Argentina): potential of *Lesquerella angustifolia*. *Industrial Crops and Products*, 18:1-6.
- Ploschuk, E, Slafer, G, Ravetta, D. 2005. Reproductive allocation of biomass and nitrogen in annual and perennial *Lesquerella* crops. *Annals of Botany*, 96: 127-135.
- Poorter, H, Garnier, E. 1999. The ecological significance of variation in relative growth rate and its components. Pp. 81-120 en Pugnaire, F. y Valladares, F. (eds.) *Handbook of Plant Functional Ecology*. Marcel Dekker, New York.
- Poorter, H, Lewis, Ch. 1986. Testing differences in relative growth rate: A method avoiding curve fitting and pairing. *Plant Physiology*, 67: 223-226.
- Poorter, H, Niinemets, Ü, Poorter, L, Wright, I, Villar R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist*, 182: 565–588.
- Poorter, H, Pepin S, Rijkers, T, de Jong, Y, Evans, J, Korner, C. 2006. Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. *Journal of Experimental Botany*, 57: 355–371.
- Poorter, H, Remkes, C. 1990. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia*, 83: 553-559.
- Poorter, H, Van Der Werf, A. 1998. Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? Pp. 309-336 en Lambers, H. Poorter, H. y Van Vuuren, M. (eds.) *A review of herbaceous species*. Leiden, The Netherlands
- Poorter, H. 1989. Interspecific variation in relative growth rate: On ecological causes and physiological consequences. Pp. 45-68 en Lambers, H. Cambridge, M. Konings, H. y Pons, T. (eds.) *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*. La Haya, Países Bajos.
- Primack, R, Hall. P. 1990. Costs of reproduction in the pink lady's slipper orchid: a four-year experimental study. *American Naturalist*, 136: 638–656.
- Puigdefábregas, J. 1995. Desertification: Stress beyond resilience, exploring a unifying process structure. *Ambio*, 24: 311-313.
- Puppala, N, Fowler, J, Jones, T, Gutschick, L, Murray, L. 2004. Evapotranspiration, yield, and water-use efficiency responses of *Lesquerella fendleri* at different growth stages. *Industrial Crops and Products*, 21: 33-47.
- Rae, A, Perroux, J, Grof, C. 2005. Sucrose partitioning between vascular bundles and storage parenchyma in the sugarcane stem: a potential role for the ShSUT1 sucrose transporter. *Planta*, 220: 817–825.
- Ravetta, D, Soriano A. 1998. Alternatives for the development of new industrial crops for Patagonia. *Ecologia Austral*, 8: 297-307.
- Reekie, E, Ávila-Sakar, G. 2005. The shape of the trade-off function between reproduction and growth. Pp.189–214 en Reekie, E. y Bazzaz, F. (eds.) *Reproductive Allocation in Plants*. Elsevier Academic Press, New York, USA.
- Reekie, E, Bazzaz, F. 1987. Reproductive effort in plants. 2. Does carbon reflect the allocation of other resources? *The American Naturalist*, 129: 897-906.
- Reekie, E, Bazzaz, F. 1992. Cost of reproduction as reduced growth in genotypes of two congeneric species with contrasting life histories. *Oecologia*, 90:21-26.
- Reynolds, C, Jackson, T, Rawls, W. 2000. Estimating soil water-holding capacities by linking the Food and Agriculture Organization soil map of the world with global

- pedon databases and continuous pedotransfer functions. *Water Resources Research*, 36: 3653 – 3662.
- Reynolds, J. 2001. Desertification. Pp. 61-78 en Levin, S. (ed.) *Encyclopedia of Biodiversity*, Volume 2. Academic Press, Nueva York, Estados Unidos.
- Reynolds, M, Tuberosa, R. 2008. Translational research impacting on crop productivity in drought-prone environments. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 171–179.
- Rhizopoulou, S, Angelopoulos, K, Mitrakos, K. 1989. Seasonal variations of accumulated ions, soluble sugars and solute potential in the expressed sap from leaves of evergreen sclerophyll species. *Acta Oecologica*, 10: 311–319.
- Richards, J, Caldwell, M. 1985. Soluble carbohydrates, in the stem base of orchard grass after defoliation. *Journal of defoliation: a field study with *Agropyron* species*. *Journal of Applied Ecology*, 22: 907–920.
- Richards, R, Rebetzke, G, Watt, M, Condon, A, Spielmeier, W, Dolferus, R. 2010. Breeding for improved water productivity in temperate cereals: phenotyping, quantitative trait loci, markers and the selection environment. *Functional Plant Biology*, 37: 85–97.
- Richards, R. 1991. Crop improvement for temperate Australia: Future opportunities. *Field Crops Research*, 26: 141-169.
- Richards, R. 1996. Defining criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regulation*, 20: 149-155.
- Ridley, A, Pannell, D. 2005. The role of plants and plant-based research and development in managing dryland salinity in Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45:1341–1355.
- Roetheli, J, Carlson, K, Kleiman, R, Thompson, A, Diering, D. 1991. *Lesquerella* as a source of hidroxy fatty acids for industrial products. *Growing Industrial Series*, Whashington DC.
- Roff, D, Fairbairn, D. 2007. The evolution of trade-offs: Where are we? *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 433–447.
- Rollins, R, Shaw, E. 1973. The genus *Lesquerella* (Cruciferae) in North America. Harvard University Press Cambridge, Massachusetts.
- Rood, S, Major, D. 1984. Influence of plant density, nitrogen, water supply and pod or leaf removal on growth of oilseed rape. *Field Crops Research*, 8: 323-331.
- Rosegrant, M., Cai, X. y Cline, S. 2002. *World water and food to 2025: dealing with scarcity*. The International Food Policy Research Institute, Washington, DC.
- Roumet, C, Urcelay, C, Díaz, S. 2005. Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist*, 170: 357-368.
- Sadras, V, Connor, D, Whitfield, D. 1993. Yield, yield components and source–sink relationships in water-stressed sunflower. *Field Crops Research*, 31: 27–39.
- Sakamaki, Y, Ino, Y. 2004. Response of non-structural carbohydrate content of below ground parts in *Equisetum arvense* according to the irradiance change during a growing season. *Journal of Plant Research*, 117: 385-391
- Salisbury, P, Green, A. 1991. Developmental responses in spring Canola cultivars. *GCIRC 1991 Congress*, pp. 1769–1773.
- Salywon, A, Dierig, D, Rebman, J, Rodriguez, D. 2005. Evaluation of New *Lesquerella* and *Physaria* (Brassicaceae) oilseed germplasm. *American Journal of Botany*, 92: 53–62.
- Sandaña, P, Calderini, D. 2012. Comparative assessment of the critical period for grain yield determination of narrow-leafed *lupin* and *pea*. *European Journal of Agronomy*, 40: 94–101.

- Sandvik, S. 2001. Somatic and demographic costs under different temperature regimes in the late-flowering alpine perennial herb *Saxifraga stellaris* (Saxifragaceae). *Oikos*, 93: 303–311.
- Savin, R, Slafer, G. 1991. Shading effects on the yield of an Argentinian wheat cultivar. *Journal of Agricultural Science*, 116: 1-7.
- Schaffer, W, Richards, S, Whittam, T. 1982. Energy allocation by annual plants when the effects of seasonality on growth and reproduction are decoupled. *The American Naturalist*, 120: 787-815.
- Schultz, E. 1982. Plant life forms and their carbon, water and nutrient relations: *Encyclopedia of Plant Physiology New Series, Volume 12 D Physiological Plant Ecology IV*
- Schupp, J, Ferree, D, Warrington, I. 1992. Interactions of root pruning and deblossoming on growth, development and yield of ‘Golden Delicious’ apple. *Horticultural Science*, 67:465– 480.
- Shiferaw, B, Prasanna, B, Hellin, J, Baonziger, M. 2011. Crops that feed the world. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3: 307–327.
- Shipley, B, Meziane, D. 2002. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology*, 16: 326-331.
- Shipley, B. 2006. Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which in most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. *Functional Ecology*, 20: 565-574.
- Siddique, K, Kirby, E, Perry, M. 1989. Ear-tostem ratio in old and modern wheats; relationship with improvement in number of grains per ear and yield. *Field Crops Research*, 21:59-78.
- Silpi, U, Lacoïnte, A, Kasempap, P, Thanysawanyangkura S, Chantuma, P, Gohet, E. 2007. Carbohydrate reserves as a competing sink: evidence from tapping rubber trees. *Tree Physiology*, 27: 881–889.
- Sinebo, W. 2005. Trade- off between yield increase and yield stability in three decades of Barley breeding in a tropical highland environment. *Field Crops Research*, 92: 35-52.
- Slafer, G, Andrade, F, Satorre, E. 1990 a. Genetic improvement effects on pre-anthesis physiological attributes related to wheat grain yield. *Field Crops Research*, 23: 255-264.
- Slafer, G, Savin, R. 1994. Source–sink relationships and grain mass at different positions within the spike in wheat. *Field Crops Research*, 37: 39–49.
- Slewiniski, T. 2011. Diverse functional roles of monosaccharide transporters and their homologs in vascular plants: a physiological perspective. *Molecular Plant*, 4: 641–662.
- Slewiniski, T. 2012. Non-Structural carbohydrate partitioning in grass stems: a target to increase yield stability, stress tolerance, and biofuel production. *Journal of Experimental Botany*, 63: 4647-4670.
- Smil V. 1999. Nitrogen in crop production: An account of global flows. *Global Biogeochemical Cycles*, 13:647–62.
- Snyder, G, Sammons, D, Sicher, R. 1993. Spike removal effects on dry matter production, assimilate distribution and grain yields of three soft red winter wheat genotypes. *Field Crops Research*, 33: 1–11.
- Soriano, A. 1956. Aspectos ecológicos y pastoriles de la vegetación patagónica. Relacionados con su estado y capacidad de recuperación. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 10:349-372.

- Stearns, S. 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3: 259–268.
- Stearns, S. 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, New York.
- Stock, W, Sommerville, J, Lewis, O. 1987. Seasonal allocation of dry mass and nitrogen in a fynbos endemic Restionaceae species *Thamnochortus punctatus* Pill. *Oecologia*, 72: 315-520.
- Stockman, Y, Fischer, R, Brittain, E. 1983. Assimilate supply and floret development within the spike of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Plant Physiology*, 10: 585-594.
- Tayo, T, Morgan, D. 1979. Factors influencing flower and pod development in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Journal of Agricultural Science*, 92: 363–373.
- Thompson, A, Dierig, D, Johnson, E. 1989. Yield potential of *Lesquerella fendleri* (Gray) Wats a new desert plant resource for hydroxy fatty acids. *Journal of Arid Environments*, 16: 331–336.
- Thompson, A, Dierig, D. 1994 Initial selection and Breeding of *Lesquerella fendleri*, a new industrial oilseed. *Industrial Crops and Products*, 2: 97-106.
- Thompson, A. 1994. Introduction to *Lesquerella*. *Lesquerella* Field Day. University of Arizona Experimental Farm. Maricopa, AZ.
- Thompson, B, Weiner, J, Warwick, S. 1995. Size-dependent reproductive output in agricultural weeds. *Canadian Journal of Botany*, 69: 442-446.
- Thompson, K, Stewart, A. 1981. The measurement and meaning of reproductive effort in plants. *American Naturalist*, 117: 205–211.
- Tilman, D. 1988. *Plant Strategies and the Dynamics and Structure of Plant Communities*. Princeton University Press, Princeton.
- Tollenaar, M, Lee, E. 2002. Yield potential yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research*, 75: 161-169.
- Van Dijk, H. 2009. Ageing effects in an iteroparous plant species with a variable life span. *Annals of Botany*. 104: 115–124.
- Van Tassel, D, Asselin, Cox, S, Sideli, G, Cattani, D. 2014. Evaluating perennial candidates for domestication: Lessons from wild sunflower relatives. Pp. 112-140 en: Batello, C. Wade, L. Cox, S. Pogna, N. Bozzini, A. y Choptiany, J. (eds.) *Perennial crops for food security*. The Land Institute, Salina, Kansas, USA.
- Vico, G, Manzoni, S, Nkurunziza, L, Murphy, K, Weih, M. 2016. Trade-offs between seed output and life span – a quantitative comparison of traits between annual and perennial congeneric species. *New Phytologist*, 1: 104-14.
- Vilariño, P, Gomez, N, Windauer, L. 1998. Influencia del fotoperiodo en la duración del subperiodo siembra—floración en Colza ‘00’ de primavera. *Revista Facultad de Agronomía*, 18: 157–162.
- Vilela, A, Agüero, R, Ravetta, D, González-Paleo, L. 2012. Long- term plasticity in growth: storage and defense allocation produces drought-tolerant juvenile shrubs of *Prosopis alata* R.A. Philippi (Fabaceae). *Flora*, 207:436–441.
- Vilela, A, Agüero, R, Ravetta, D, González-Paleo, L. 2016. Long-term effect of carbohydrate reserves on growth and reproduction of *Prosopis denudans* (Fabaceae): implications for conservation of woody perennials. *Conservation Physiology*, 4: 1–9.
- Vilela, A, González-Paleo, L. 2015. Changes in resource-use strategy and phenotypic plasticity associated with selection for yield in wild species native to arid environments. *Journal of Arid Environments*, 113: 51–58.
- Vilela, A, Rennella, M, Ravetta, D. 2003. Responses to tree-type and shrub type *Prosopis* (Mimosaceae) taxa to water and nitrogen availabilities. *Forest Ecology and Management*, 186: 327-337.

- Vriet, C, Russinova, E, Reuzeau, C. 2012. Boosting crop yields with plant steroids. *Plant Cell* 24: 842–857.
- Wagoner, P, Schaeffer, J. 1990. Perennial grain development: Past efforts and potential for the future. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 9: 381–408.
- Wagoner, P. 1995. Intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*) development of a perennial grain crop. Pp. 185–221 en Williams, J. (ed.) *Cereals and Pseudocereals*. Chapman and Hill, London.
- Wardlaw, I. 1967. The effect of water stress on translocation in relation to photosynthesis and growth I. Effect during grain development in wheat. *Australian Journal of Biological Sciences*, 20: 25-39.
- Wardlaw, I. 1990. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist*, 116: 341–381.
- Warembourg, F, Estelrich, H. 2001. Plant phenology and soil fertility effects on below-ground carbon allocation for an annual (*Bromus madritensis*) and a perennial (*Bromus erectus*) grass species. *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 1291-1303.
- Wassner, D, Ravetta, D. 2005. Temperature effects on leaf properties, resin content, and composition in *Grindelia chiloensis* (Asteraceae). *Industrial Crops and Products*, 21: 155–163.
- Watt, M, Kirkegaard, J, Rebetzke, G. 2005. A wheat genotype developed for rapid leaf growth copes well with the physical and biological constraints of unploughed soil. *Functional Plant Biology*, 32: 695–706.
- Wien, H, Tayo, T. 1978. The effect of defoliation and removal of reproductive structures on growth and yield of tropical grain legumes. Pp. 241-252 en Singh, S. Ven Emden, H. y Taylor, A. (eds.) *Pest of grain legumes. Ecology and Control*, Academic Press, London.
- Wilson, D, Cooper, J. 1969. Assimilation rate and growth of *Lolium* populations in the glasshouse in contrasting light intensities. *Annals of Botany*, 33: 951-965.
- Windauer, L, Slafer, G, Ravetta, D, Benech-Arnold, R. 2005. Environmental control of phenological development in two *Lesquerella* species. *Field Crops Research*, 96: 320-327.
- Windauer, L, Slafer, G, Ravetta, D. 2004. Phenological responses to temperature of an annual and a perennial *Lesquerella* species. *Annals of Botany*, 94: 139-144.
- Wood, S, Sebastian, K. y Scherr, S. 2000. *Pilot Analysis of Global Ecosystems: Agroecosystems*. The International Food Policy Research Institute, Washington, DC.
- Wyka, T. 2000. Effect of nutrients on growth rate and carbohydrate storage in *Oxytropis sericea*: A test of the carbon accumulation hypothesis. *International Journal of Plant Sciences*, 161: 381-386.
- Yang, J, Zhang, J, Huang, Z, Zhu, Q, Wang, L. 2000. Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil drying during grain filling of wheat. *Crop Science*, 40: 1645-1655.
- Yemm, E, Willis, A. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*, 57: 508-514.
- Zavala, J, Ravetta, D. 2001. The effect of irrigation regime in biomass and resin production in *Grindelia chiloensis*. *Field Crops Research*, 69: 227-236.
- Zavala, J, Ravetta, D. 2002. The Effect of Solar UV-B Radiation on Terpenes and Biomass Production in *Grindelia chiloensis* (Asteraceae), a Woody Perennial of Patagonia, Argentina. *Plant Ecology*, 161: 185-191.