



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Agronomía - Programa de Magister en Ciencias Agronómicas

**Aplicación de períodos de sequía controlada en cultivos de
Chenopodium quinoa WILLD. como estrategia agronómica
para el incremento del contenido de proteínas en semillas**

Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Agronómicas con
Mención en Producción y Protección Vegetal

LUIS FRANCISCO BUSTAMANTE GUTIÉRREZ
CHILLÁN-CHILE
2018

Profesor Guía: Dra. Susana Fischer Ganzoni
Dpto. de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía
Universidad de Concepción



**APLICACIÓN DE PERÍODOS DE SEQUÍA CONTROLADA EN CULTIVOS DE
Chenopodium quinoa WILLD. COMO ESTRATEGIA AGRONÓMICA PARA EL
INCREMENTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS EN SEMILLAS**

Aprobada por:

Susana Fischer Ganzoni
Ing. Agrónomo, Dr.

Profesor Guía

Rosemarie Wilckens Engelbreit
Lic. Biología, Dr. rer. nat.

Evaluadora Interna

María Dolores López Belchí
Lic. Química, Dr.

Evaluadora Interna

Inés Figueroa Cares
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr.

Directora de Programa



Este trabajo de investigación fue financiado y forma parte del proyecto “Improving nutritional quality in quinoa seeds through water restriction” del El Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) N° 1140661 y respaldado por el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

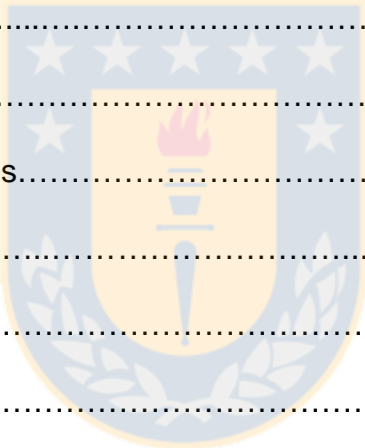
Parte de las metodologías de análisis e información de este estudio contribuyeron para la publicación “Protein and antioxidant composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) sprout from seeds submitted to water stress, salinity and light conditions” de la revista *Industrial Crops and Products* (Vol. 107, 2017, pp. 558-564).

Este trabajo fue escrito siguiendo las normas de escritura estipulados por la revista *Industrial Crops and Products*.



TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Índices de figuras y tablas.....	vi
Resumen.....	viii
Summary.....	ix
Introducción.....	1
Hipótesis.....	4
Objetivos.....	5
Materiales y métodos.....	5
Resultados.....	12
Discusión.....	26
Conclusiones.....	37
Bibliografía.....	38



ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
<p>Figura 1 Cultivos de quínoa al aire libre durante el periodo de aplicación de estrés hídrico. (a): genotipo Cáhuil, T20, temporada 2015/2016, (b): genotipo Morado, T100, temporada 2014/2015, (c): disposición de las parcelas y sistema de riego en el ensayo 2015/2016.....</p>	7
<p>Figura 2 Temperaturas máximas, mínimas y radiación fotosintéticamente activa (PAR) registrada durante el periodo de estrés hídrico aplicado a plantas de quínoa durante la etapa de llenado de grano. (a) ensayo al aire libre temporada 2014/2015. (b) ensayo al aire libre e invernadero temporada 2015/2016.....</p>	13
<p>Figura 3 Contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v) registrado durante el periodo de estrés hídrico aplicado a plantas de quínoa durante la etapa de llenado de grano. (a) y (b): valores medios de θ_v determinados para la temporada 2014/2015 por tratamientos hídricos y genotipos, (c) y (d): valores medios de θ_v medidos para la temporada 2015/2016 por tratamientos hídricos y genotipos, (e) y (f): valores medios de θ_v registrados para el ensayo de invernadero por tratamientos hídricos y genotipos.....</p>	15
<p>Figura 4 Potencial hídrico foliar (PHF) registrado durante el periodo de estrés hídrico aplicado a plantas de quínoa durante la etapa de llenado de grano. (a) y (b): valores medios de PHF determinados para la temporada 2014/2015 por tratamientos hídricos y genotipos, (c) y (d): valores medios PHF medidos para la temporada 2015/2016 por tratamientos hídricos y genotipos, (e) y (f): valores medios de PHF registrados para el ensayo de invernadero por tratamientos hídricos y genotipos.....</p>	17

Página

Figura 5	Rendimiento de semillas de plantas de quínoa sometidas a riego deficitario durante la etapa de llenado de grano: valores medios \pm la desviación estándar por tratamiento hídrico y por genotipo. (a) y (b): temporada 2014/2015, (c) y (d): temporada 2015/2016, (e) y (f): ensayo de invernadero. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).....	19
Tabla 1	Contenido volumétrico de agua en el suelo θ_V ($m^3 m^{-3}$) máximo y mínimo registrado por tratamiento hídrico y por genotipo en cultivos <i>Ch. quinoa</i> expuestos a riego deficitario durante la temporada 2014/2015 y 2015/2016...	14
Tabla 2	Proteínas totales en semillas ($g 100 g^{-1}$ de semillas) de <i>Ch. quinoa</i> expuestas a riego deficitario durante la temporada 2014/2015 y 2015/2016.....	22
Tabla 3	Fracciones de proteínas de reserva extraídas ($mg g^{-1}$ de muestra) de <i>Ch. quinoa</i> expuestas a riego deficitario durante la temporada 2014/2015 y 2015/2016.....	24

APLICACIÓN DE PERÍODOS DE SEQUÍA CONTROLADA EN CULTIVOS DE *Chenopodium quinoa* WILLD. COMO ESTRATEGIA AGRONÓMICA PARA EL INCREMENTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS EN SEMILLAS

APPLICATION OF CONTROLLED DROUGHT PERIODS IN *Chenopodium quinoa* WILLD. CROPS AS AN AGRONOMIC STRATEGY FOR SEED PROTEIN INCREASE

RESUMEN

Chenopodium quinoa WILLD. es un pseudocereal cultivado principalmente en zonas áridas y semiáridas. Es tolerante al congelamiento, salinidad, sequía y deficiencia nutricional del suelo. Las semillas son ricas en proteínas, lípidos, antioxidantes, vitaminas y ácidos grasos, además de un alto contenido de lisina y metionina (dos aminoácidos que son deficientes en cereales). La capacidad fotosintética de las plantas es afectada por la sequía, reduciéndose la síntesis de proteínas de almacenaje en la semilla. Sin embargo, como *Ch. quinoa* es una especie tolerante a la sequía, se plantea que su cultivo con riego deficitario podría incrementar el contenido de proteínas sin afectar significativamente el rendimiento de semillas.

En Chillán (36°35'56.5"S, 72°05'02.8"O), durante la temporada 2014/2015 (aire libre) y 2015/2016 (aire libre e invernadero) se evaluó la respuesta del potencial hídrico foliar, rendimiento de semillas, proteínas totales en semilla y contenido de albuminas, globulinas y otras proteínas solubles en semillas, en cuatro genotipos cultivados con reposición hídrica a 0, 20, 40, 70 y 100% del agua disponible durante la etapa fenológica de llenado de grano.

La variación en el potencial hídrico foliar (-0,98 a -2,18 MPa) probablemente estuvo asociada a las fluctuaciones de radiación y temperatura y no a la disponibilidad hídrica del suelo. El rendimiento varió desde 568,7 a 3409,6 kg ha⁻¹ al aire libre y 3,72 a 4,81 g planta⁻¹ en invernadero, dependiendo de la disponibilidad hídrica del suelo solo en 2014/2015. Dicha respuesta no se repitió entre temporadas y probablemente se debió a la fluctuación de radiación y temperatura. El genotipo Cáhuil mostró el mayor rendimiento de semillas en los tres ensayos. El contenido de proteínas totales (10,51–14,03 g 100 g⁻¹ de semillas) disminuyó en función del déficit hídrico en la temporada 2014/2015. Sin embargo, esta respuesta no se repitió en los demás ensayos. El

genotipo que presentó el mayor contenido de proteínas totales en los tres ensayos fue Morado. La variación en el contenido de fracciones proteicas (albuminas: 20,3-40,3 mg g⁻¹ de semilla. globulinas: 31,6-44,1 mg g⁻¹ de semilla. otras proteínas solubles: 38,3-50,7 mg g⁻¹ de semilla) no estaría asociada a la disponibilidad hídrica. Mientras que el contenido de albuminas disminuyó en el ensayo de invernadero, probablemente debido a la alta temperatura en su interior. Es posible cultivar quínoa en condiciones de riego deficitario sin disminuir significativamente la producción de semillas y acumulación de proteínas de reserva en ellas, aunque no se observó incremento del contenido de proteínas en semillas.

Palabras índice adicionales: Amaranthaceae, Chenopodioideae, agua disponible, grano lechoso, estrés ambiental, estrés térmico.

SUMMARY

Chenopodium quinoa WILLD. it is a pseudocereal cultivated mainly in arid and semi-arid zones. It is tolerant to freezing, salinity, drought and soil nutritional deficiency. Seeds are rich in proteins, lipids, antioxidants, vitamins and fatty acids, in addition to a high content of lysine and methionine (two amino acids that are deficient in cereals). Photosynthetic capacity of plants is affected by drought, reducing seed storage proteins synthesis. However, since *Ch. quinoa* is a drought tolerant species, it is suggested that its crop with deficit irrigation could increase protein content without significantly affecting seed yield.

In Chillán (36°35'56.5"S, 72°05'02.8"O) during 2014/2015 (open-air) and 2015/2016 (open-air and greenhouse) season, response of leaf water potential, seed yield, seed total protein and seed content of albumins, globulins and other soluble proteins were evaluated, in four genotypes cultivated with irrigation at 0, 20, 40, 70 and 100% of available water during phenological stage of grain filling.

Variation in leaf water potential (-0.98 to -2.18 MPa) was probably associated to radiation and temperature fluctuations and not to soil water availability. Yield changed from 568.7 to 3409.6 kg ha⁻¹ in open-air and 3.72 to 4.81 g plant⁻¹ in greenhouse, depending on soil water availability only for 2014/2015. This response was not repeated between seasons and was probably due to radiation and temperature fluctuation.

Cáhuil genotype showed the highest seed yield in the three trials. Total protein content (10.51-14.03 g 100 g⁻¹ of seeds) decreased according to water deficit for 2014/2015 season. However, this response was not repeated in the other trials. Genotype that presented the highest total protein content in the three trials was Morado. The change in content of protein fractions (albumins: 20.3-40.3 mg g⁻¹ of seed. globulins: 31.6-44.1 mg g⁻¹ of seed. other soluble proteins: 38.3-50.7 mg g⁻¹ of sample) would not be associated with water availability. While albumins content decreased in greenhouse trial, probably due to high temperature inside. It is possible to grow quinoa under deficit irrigation without significantly decreasing seed production and seed storage proteins accumulation, although no increase in seed protein content was observed.

Key words: Amaranthaceae, Chenopodioideae, available water, milky grain, environmental stress, thermal stress.



INTRODUCCIÓN

La quínoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) es un pseudocereal de la familia Amaranthaceae que ha sido cultivado a lo largo de los siglos en Sudamérica y principalmente en las zonas áridas y semiáridas de la región Andina (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016). Es una planta anual, de 1-2 metros de altura que puede ser cultivada en gradientes altitudinales que van desde el nivel del mar hasta los 3.800-4.500 m s.n.m. (Bhargava *et al.*, 2006; Jacobsen, 2003; Vega-Gálvez *et al.*, 2010). Se ha documentado que en poblaciones naturales, la quínoa es una especie de día corto, aunque se han diferenciado ecotipos de día largo (Jacobsen, 2003; Zurita-Silva *et al.*, 2014). Además, la plasticidad de la especie permite cultivar algunas de las variedades fuera de su zona geográfica natural (Bendevis *et al.*, 2014; Jacobsen, 2003). Las plantas de quínoa han mostrado ser tolerantes al congelamiento, salinidad y sequía, así como se ha observado su capacidad para crecer en suelos con baja disponibilidad de nutrientes. Estas cualidades han permitido cultivar este pseudocereal en regiones donde su ocurrencia no es natural (Jacobsen, 2003).

Bolivia es el principal exportador de quínoa en el mundo (Delatorre-Herrera, 2003; Jacobsen, 2003). En Chile, el cultivo de la quínoa es incipiente (Delatorre-Herrera, 2003). Según la ODEPA (2014), en la temporada 2011/2012 en Chile existía una superficie de 1779 ha sembradas con quínoa. La adaptación del cultivo a zonas del centro-sur de Chile y el trabajo en programas de mejoramiento genético, ha permitido obtener variedades con rendimientos potenciales que superan las 6,5 t ha⁻¹ (Delatorre-Herrera, 2003).

Las plantas de quínoa, incluyendo las semillas, contienen elementos nutricionales de interés para el consumo humano y animal (Vega-Gálvez *et al.*, 2010). Sus semillas, debido a su contenido balanceado de aminoácidos, lípidos, antioxidantes, vitaminas y ácidos grasos, han sido propuestas como un alimento funcional (Vega-Gálvez *et al.*, 2010). La fracción proteica de las semillas de quínoa es rica en lisina y metionina, dos aminoácidos que son deficientes en otros cereales (Bhargava *et al.*, 2006). Tanto las semillas como las hojas de quínoa presentan elevados niveles de actividad antioxidante, sugiriendo que existe una alta concentración de moléculas con actividad antioxidantes (Fischer *et al.*, 2013; Yawadio Nsimba *et al.*, 2008).

Una de las características más destacables de la quínoa es su contenido de proteína, que va desde los 11 a 16 g 100 g⁻¹ de semillas (Föste *et al.*, 2015; Koziol, 1992; Navarro-Lisboa *et al.*, 2017; Watanabe *et al.*, 2003). La porción proteica de las semillas de *Ch. quinoa* está compuesta, principalmente, por las fracciones 11S que corresponden a globulinas y 2S que corresponden a albuminas (Brinegar *et al.*, 1996; Brinegar y Goundan, 1993; Navarro-Lisboa *et al.*, 2017). También, las semillas de quínoa poseen un contenido balanceado de aminoácidos esenciales y un alto contenido de treonina, histidina, isoleucina, metionina y lisina (Navarro-Lisboa *et al.*, 2017; Repo-Carrasco *et al.*, 2003; Wright *et al.*, 2002). El alto contenido de lisina está asociado a las fracciones de albuminas y globulinas, que pueden representar hasta el 77% de la proteína total de quínoa (Fairbanks *et al.*, 1990; Navarro-Lisboa *et al.*, 2017). Se ha reportado que la fracción proteica de las semillas de quínoa puede contener entre 33,3 y 35,6 mg de albuminas g⁻¹ de semilla y entre 39,9 y 42,6 mg de globulinas g⁻¹ de semillas (Drzewiecki *et al.*, 2003; Lamacchia *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 2003). Además, la fracción de proteínas de la quínoa ha llamado la atención por su potencial utilización como un alimento funcional. Se ha documentado que el uso de hidrolizados de proteína de quínoa puede reducir los niveles de glucosa en la sangre, ayudando a combatir la aparición y prevalencia de la diabetes tipo II (Nongonierma *et al.*, 2015).

Se ha registrado que la capacidad fotosintética de la mayoría de las plantas se ve afectada en periodos de sequía (Reddy *et al.*, 2004; Dias y Brüggemann, 2010). Esto causa una reducción de la síntesis de algunos metabolitos primarios, como por ejemplo, proteínas de almacenaje en la semilla (Castrillo *et al.*, 2001). Los análisis que se centran en el estudio de la fluorescencia de la clorofila entregan información directa sobre el estado del aparato fotosintético de las plantas (Maxwell y Johnson, 2000). Los índices que muestran el máximo uso de energía lumínica para la producción fotoquímica (rendimiento cuántico) son parámetros aceptados como indicadores de la respuesta a nivel bioquímico y fisiológico de las plantas frente al estrés por sequía, puesto que al disminuir la eficiencia fotoquímica, disminuye la síntesis de biomoléculas y, por ende, la fijación de carbono y producción de biomasa (Maxwell y Johnson, 2000; Winkel *et al.*, 2002; Dias y Brüggemann, 2010).

En muchas especies de plantas se ha documentado que el estrés hídrico por sequía produce alteraciones en la síntesis y acumulación de metabolitos, entre ellos proteínas y carbohidratos de reserva (He *et al.*, 2012; Nguyen *et al.*, 2015; Yi *et al.*, 2014). Por ende, los patrones de acumulación de metabolitos en semillas se ven alterados (Kagaya *et al.*, 2005; Parchin y Shaban, 2014). El daño enzimático que se produce en las hojas limita la síntesis de proteínas solubles, así como también se ve afectada la actividad de las enzimas encargadas de fijar carbono (Castrillo *et al.*, 2001; Reddy *et al.*, 2004). Sin embargo, en plantas de maíz, tomate y porotos, cuando la restricción hídrica es media a moderada, la actividad de las enzimas involucradas en la fijación de carbono se mantiene relativamente estable, así como el contenido de proteínas sintetizadas (Castrillo *et al.*, 2001).

La respuesta fisiológica de las plantas de quínoa al estrés hídrico se ha estudiado principalmente en base a parámetros de intercambio gaseoso relacionados a la asimilación de CO₂ (González *et al.*, 2011). A su vez, estudios de los mecanismos fisiológicos de resistencia al déficit hídrico en *Ch. quinoa* han sido focalizados, principalmente, a los mecanismos de conservación del agua en la planta y de eficiencia en su uso (González *et al.*, 2011; Jacobsen *et al.*, 2003; Jensen *et al.*, 2000). Se ha observado que la eficiencia fotosintética de quínoa se ve poco afectada por la sequía (Winkel *et al.*, 2002). Estudios sugieren que las plantas de quínoa son tolerantes a periodos de sequía durante etapas reproductivas (Fischer *et al.*, 2013; Jensen *et al.*, 2000). La restricción hídrica durante la etapa reproductiva en quínoa incrementa la capacidad antioxidante de sus semillas, con una reducción del rendimiento menor al 20% en algunos genotipos respecto del control (Fischer *et al.*, 2013). También, se ha determinado diferencias en la acumulación de globulinas en las semillas de quínoa al aplicar periodos de sequía controlada durante la etapa de llenado de grano (Fischer *et al.*, 2017). Sin embargo, no existe suficiente información sobre los cambios en la acumulación de proteínas totales en las semillas.

En condiciones de cultivo sin riego el rendimiento de semillas en quínoa es dependiente de la disponibilidad de agua en el suelo (González *et al.*, 2011). A pesar de esto, es cultivada en las zonas áridas del sur de Bolivia, sin riego artificial (Jacobsen *et al.*, 2003). Se ha demostrado que ciertos genotipos, que presentan mayores tasas

de fotosíntesis y de conductancia hídrica, al ser cultivados en condiciones de sequía, alcanzan rendimientos de semilla de hasta 3,8 t ha⁻¹ (González *et al.*, 2011). Winkel *et al.* (2002) señalan que al cultivar quínoa en invernadero, el índice de eficiencia cuántica Fv/Fm no muestra variaciones en plantas expuestas a déficit hídrico progresivo, además este parámetro no presenta variación ontogénica. Estos antecedentes sugieren que en algunos genotipos de quínoa durante diferentes etapas de desarrollo, la actividad fotosintética no se ve afectada por la falta de agua (Fischer *et al.*, 2013; Winkel *et al.*, 2002). También se ha mostrado que los índices de eficiencia fotosintética y el estado de los fotosistemas en plantas de quínoa son poco afectados por estrés salino e hídrico de baja intensidad (efecto multi-estrés) (Bosque Sanchez *et al.*, 2003).

Por las características nutricionales de las semillas de quínoa (alto contenido y eficiencia biológica de proteínas y antioxidantes) se ha propuesto como una alternativa que podría contribuir a enfrentar problemas de salud que afectan a la población nacional y mundial (Fischer *et al.*, 2013; Vega-Gálvez *et al.*, 2010). Además, la quínoa representa una alternativa para la diversificación de los sistemas agrícolas, sobre todo frente a la posibilidad de producir semillas de alto valor nutricional en condiciones edafológicas y climáticas desafiantes (Bhargava *et al.*, 2006).

La alteración de los patrones de riego en la quínoa producen cambios en la distribución del carbono y el nitrógeno en la planta (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016). Los cambios en la composición de moléculas de valor nutricional almacenadas en semillas de *Ch. quinoa* podrían sustentar una estrategia de cultivo que incremente la calidad de las semillas, proporcionando una alternativa de cultivo que potencialmente contribuya a la seguridad alimentaria mundial, frente a la escasez hídrica y cambio climático (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016; Fischer *et al.*, 2017, 2013).

HIPÓTESIS

La aplicación de periodos de sequía controlada, como una estrategia agronómica, durante la etapa de llenado de grano en cultivos de *Ch. quinoa*, incrementa la acumulación de proteínas totales y fracciones de proteínas de reserva en las semillas sin disminuir el rendimiento del cultivo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el comportamiento productivo y la acumulación de proteínas totales y fracciones de proteínas de reserva en las semillas, como respuesta a tratamientos de restricción hídrica de diferente intensidad en cultivos de quínoa durante la etapa de llenado de grano.

Objetivos específicos

- Comparar el contenido de proteínas totales en semillas de plantas de quínoa expuestas a periodos de estrés hídrico de diferente duración.
- Evaluar cambios del contenido de fracciones de proteínas extraídas desde semillas de plantas de quínoa expuestas a periodos de sequía de diferente intensidad.
- Relacionar la acumulación de proteínas y sus diferentes fracciones respecto de la producción de semillas en plantas sometidas a estrés hídrico de diferente intensidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental y material vegetal

Los ensayos se realizaron bajo condiciones controladas en dos ambientes: a) Aire libre (AL) en las temporadas 2014-2015 y 2015-2016 en la Estación Experimental "El Nogal" (36°35'56.5"S, 72°05'02.8"O) de la Universidad de Concepción, Chillán; b) Invernadero (I) en la temporada 2015-2016 en un invernadero tipo 'Quillotano' (Alvarado y Urrutia, 2003) con sombreado en la etapa estival (malla Raschel negra 50% de sombra) (36°35'54.26"S, 72°4'55.07"O). Se sembraron semillas de *Chenopodium quinoa* de la variedad 'Regalona' y los genotipos 'C', 'Cáhuil' y 'Morado' en primavera según lo descrito por Fischer *et al.* (2013). Cuando las plantas alcanzaron la etapa fenológica de llenado de grano (Berti *et al.*, 1997), estas fueron expuestas a periodos controlados de sequía de diferente duración. Se aplicó la restricción hídrica

hasta el momento de alcanzar la madurez fisiológica de las semillas. Previo al inicio de la restricción hídrica los diferentes tratamientos fueron regados a capacidad de campo y posteriormente se repuso el riego cuando en el suelo se registró un 100, 70, 40, 20 y 0% de agua disponible (AW) (T100, T70, T40, T20 y T0, respectivamente). Para calcular el valor de AW se utilizó la siguiente ecuación:

$$AW = (\theta_{CC} - \theta_{PMP}) Z \quad (1)$$

Donde θ_{CC} corresponde al contenido volumétrico de agua del suelo a capacidad de campo (CC; $m^3 m^{-3}$), θ_{PMP} es el contenido volumétrico de agua del suelo al punto de marchitez permanente (PMP; $m^3 m^{-3}$), equivalente a un potencial hídrico a -30 y -1500 $J kg^{-1}$ respectivamente; y Z es la profundidad de la zona radicular (m) (Bittelli *et al.*, 2015).

La cosecha se realizó en verano, cuando el 50% de las panículas alcanzó madurez fisiológica (coloración marrón) (Berti *et al.*, 1997).

Se usó un diseño de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas; donde la parcela principal correspondió a los distintos niveles de AW y la sub-parcela a los diferentes genotipos utilizados durante el ensayo. Se estableció cuatro repeticiones para cada tratamiento.

Manejo agronómico de los experimentos

Los experimentos al aire libre (Fig.1) fueron sembrados a una dosis de $15 kg ha^{-1}$, en parcelas de 2 m de ancho por 4 m de largo, con 0,5 m de distancia entre hileras. La aplicación de fertilizantes se realizó acorde a los análisis de suelo. Se aplicó $100 kg P_{205} ha^{-1}$ y $50 kg K_{20} ha^{-1}$ y $160 kg N ha^{-1}$ en forma de urea. Esta última fue aplicada en dos dosis; 50% cuando la 2ª hoja se encontraba completamente expandida y 50% al inicio de la antesis.

En el ensayo de invernadero se utilizó macetas de 30 cm de diámetro y 45 cm de profundidad, con 5 macetas por unidad experimental. En cada maceta se sembró 10 a 20 semillas. Una vez emergidas las plantas, se dejaron solo tres plantas por maceta.

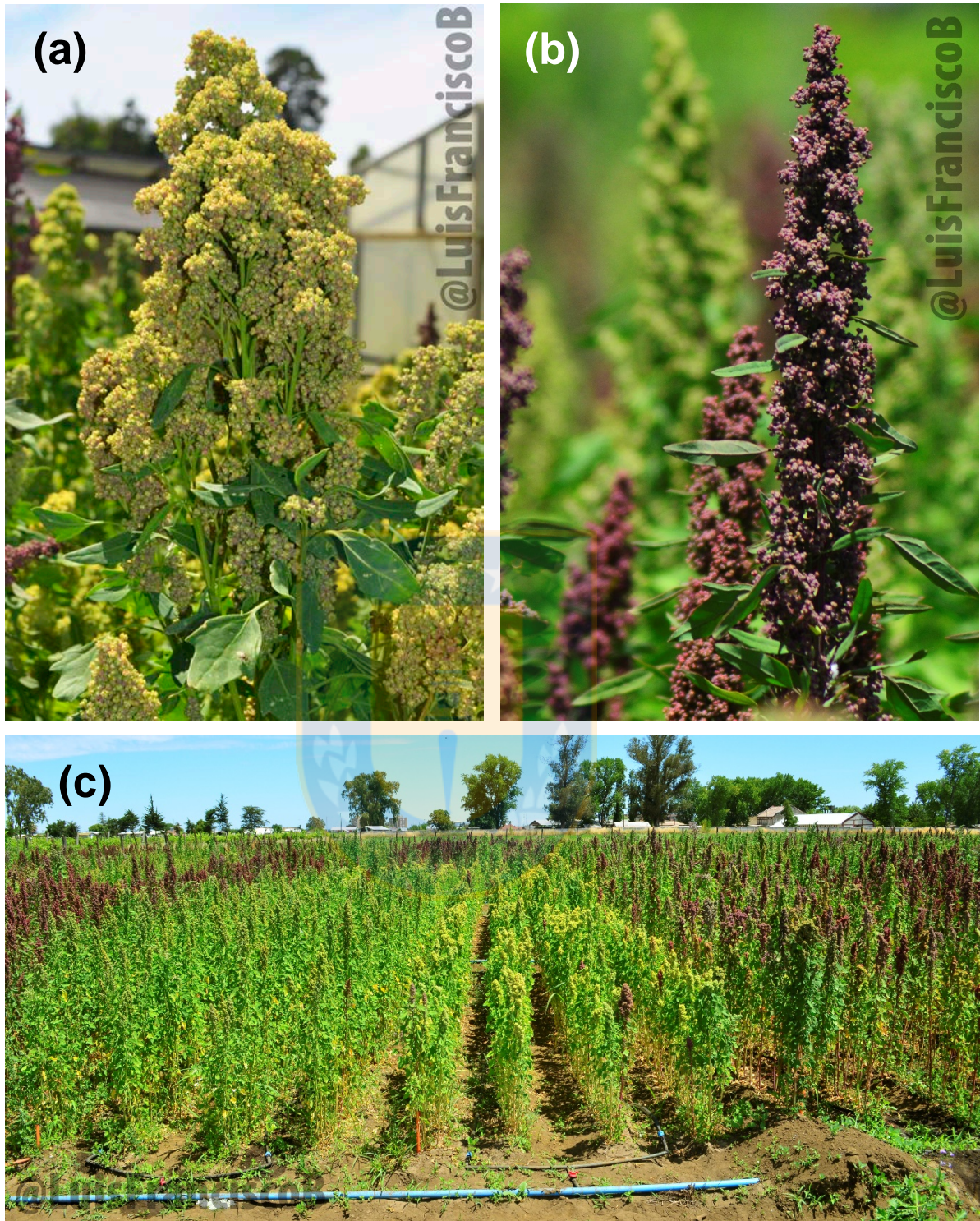


Figura 1. Cultivos de quínoa al aire libre durante el periodo de aplicación de estrés hídrico. **(a):** genotipo Cáhuil, T20, temporada 2015/2016, **(b):** genotipo Morado, T100, temporada 2014/2015, **(c):** disposición de las parcelas y sistema de riego en el ensayo 2015/2016. (Fuente: autoría propia).

La fertilización en las macetas se llevó a cabo de la misma forma que en los experimentos al aire libre.

En los experimentos al aire libre, el sistema de riego se instaló posterior a la emergencia de las plantas. Se utilizaron cintas de gotero incorporado (10 cm de espaciamiento). El caudal utilizado fue de $5 \text{ L m}^{-1} \text{ h}^{-1}$ con una presión de 0,7 bares. El ensayo de invernadero fue regado manualmente.

Temperatura y radiación fotosintéticamente activa (PAR)

Los registros de temperatura máxima y temperatura mínima y radiación fueron proporcionados por la estación climatológica de la Facultad de Ingeniería Agrícola de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

La radiación fotosintéticamente activa fue registrada con un piranómetro (400-700 nm de longitud de onda).

La temperatura al interior del invernadero fue registrada tres veces a lo largo del ensayo, registrándose siempre 5-6 °C más que la temperatura exterior.

Contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v)

En los ensayos al aire libre, para determinar el contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v), previamente se instaló un tubo de acceso de 1,2 m de profundidad en cada unidad experimental. θ_v se midió con una sonda de neutrones (CPN, 503-DR Hydroprobe, Campbell Pacific Nuclear International, California, USA) calibrada previamente para las condiciones del sitio de estudio. Esta se midió a 0,2; 0,45; 0,75 y 1,05 m de profundidad.

En el ensayo en invernadero, el contenido volumétrico de agua en el suelo se determinó utilizando un reflectómetro de dominio de tiempo (TDR) (Megger Instruments, Dover, Reino Unido), previamente calibrado para las condiciones del experimento.

Potencial hídrico foliar (PHF)

Para observar el efecto de los periodos de sequía en las plantas de quínoa se determinó el potencial hídrico foliar (PHF) en diferentes momentos del periodo de aplicación de estrés hídrico. Para medir PHF se utilizó una cámara de presión Scholander (Eijkelkamp 3000, Giesbeek, Países Bajos). El PHF se determinó en una hoja tomada al azar del segundo tercio de las plantas. Para evitar su deshidratación, una vez cortada la hoja esta fue transportada en una cámara húmeda hasta la cámara Scholander (el transporte duró 0,5 – 1 min). Las mediciones se realizaron entre las 12 y las 15 horas.

Rendimiento de semillas

En cada parcela se seleccionó las dos hileras centrales y descartando 0,5 m de cada extremo, evaluando los 3 m centrales. Las plantas cosechadas fueron secadas a temperatura ambiente por 5 días y luego trilladas en una trilladora estacionaria (fabricación nacional). Se eliminó las impurezas y residuos vegetativos de las muestras. En los ensayos al aire libre, para cada parcela se pesó las semillas cosechadas y se determinó rendimiento de semillas por unidad de superficie (kg ha^{-1}). En el ensayo de invernadero, por la naturaleza del experimento, se trilló todas las plantas por unidad experimental, se pesó las semillas trilladas y se determinó rendimiento de semillas por planta (g planta^{-1}).

Cuantificación de proteínas totales (PT)

Para la cuantificación de proteínas totales en semillas, se tomó 100 g de semillas trilladas y limpias de cada parcela. Estas semillas fueron molidas con un molino centrífugo Cyclotec 1093 (Foss Tecator, Hillerød, Dinamarca), utilizando un tamiz de 0,5 mm.

La cuantificación de las proteínas totales se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal (Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Campus Chillán) según el método oficial que describe la AOAC International (2016) y que se basa en la cuantificación del nitrógeno en la muestra

según lo descrito por Kjeldahl (1883). El factor utilizado para conversión de nitrógeno total a proteína total fue 5,39, específico para quínoa (Fujihara *et al.*, 2008).

Preparación de muestras para extracción de proteínas

Lavado de semillas

Con el fin eliminar las saponinas, las semillas de quínoa fueron lavadas con agua destilada. Para los ensayos al aire libre se tomó 30 g de semillas limpias por parcela y se lavó cuatro veces con 300 mL de agua destilada en agitación (aprox. 200 rpm). Para el ensayo de invernadero se tomó 10 g de semillas y se lavó tres veces con 100 mL de agua destilada en agitación. Luego las semillas fueron secadas a 65 ± 3 °C en una estufa de convección UT 6200 (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Alemania).

Obtención de harina de quínoa

Se tomó 5 g de semillas lavadas y secas que fueron molidas en molinos centrífugos Cyclotec 1093 (Foss Tecator, Hillerød, Dinamarca) o ZM2 (Retsch Mill, Düsseldorf, Alemania), utilizando tamices de 0,5 mm.

Extracción de lípidos

A 4 g de harina de quínoa se agregó 20 mL de acetona seca sobre K_2CO_3 , se agitó durante 20 min y se filtró utilizando papel filtro No.2 (Advantec MFS, Tokio, Japón). La harina se secó a temperatura ambiente y se almacenó en tubos de polipropileno de 15 mL a $-20^\circ C$ para su posterior uso.

Extracción de proteínas

Desde las harinas obtenidas se extrajo, en forma secuencial, las fracciones proteicas de albuminas, globulinas y otras proteínas solubles siguiendo los protocolos descritos por Stegemann y Pietsch (1983) y Wilckens *et al.* (1996), con algunas modificaciones. Para extraer las albuminas se usó 1 g de harina y se agregó 4 mL de agua destilada desionizada, se agitó por 30 min a $22^\circ C$ en tubos de centrifuga de polipropileno de 15 mL. Luego el homogenizado fue centrifugado a $3000 \times g$ durante 10 min en una centrifuga 5702 R (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Posterior, se traspasó el

sobrenadante a tubos de microcentrifuga de 1,7 mL y se centrifugó nuevamente a $10.000 \times g$ durante 10 min para eliminar todos los residuos en una centrifuga 5424 R (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). El sobrenadante se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego, para extraer las globulinas, al sedimento en el tubo de polipropileno de 15 mL se agregó 4 mL tampón Tris 62,5 mM/ácido bórico 9,5 mM, pH 8,9. Se siguió el mismo protocolo usado para la extracción de albuminas y se almacenó el sobrenadante a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para la extracción de otras proteínas solubles, al sedimento de la misma muestra de harina se agregó 4 mL de tampón Tris 62,5 mM/ácido bórico 9,5 mM, pH 8,9 + dodecilsulfato sódico (SDS) 4% (p/v) + 2-mercaptoetanol (2-ME) 0,75 M. Para la extracción se siguió el mismo protocolo utilizado en las extracciones anteriores y se guardó el sobrenadante a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Cuantificación de proteínas en solución

Para cuantificar las proteínas en la fracción de albuminas y globulinas se utilizó el protocolo descrito por Bradford (1976). Las concentraciones fueron determinadas mediante curva de calibración confeccionada con albumina de suero bovino (BSA) (Boehringer No. 735086, Mannheim, Alemania) como estándar utilizando concentraciones de 0, 5, 15, 35, 50, 70, 85, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Las lecturas de absorbancia se efectuaron con un espectrofotómetro Spectroquant Pharo 300 (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) a una longitud de onda (λ) de 595 nm.

Para la cuantificación de otras proteínas solubles se usó un método modificado desde lo descrito por Simonian y Smith (2001). Esta cuantificación se basa en la absorbancia de luz ultravioleta (UV) a $\lambda=280\text{ nm}$ (A_{280}) por parte de los aminoácidos aromáticos de las proteínas en solución. Y para minimizar la interferencia del SDS y 2-ME se diluyó las muestras con agua destilada desionizada. Para la cuantificación de esta fracción de proteínas se tomó 50 μL de cada muestra y se le agregó 50 μL de tampón Tris 62,5 mM, ácido bórico 9,5 mM, pH 8,9, dodecilsulfato sódico (SDS) 4% y 2-mercaptoetanol (2-ME) 0,75 M. A cada muestra se le agregó 2,5 mL de agua destilada desionizada. Las muestras fueron homogenizadas y en una alícuota de 1 mL se determinó A_{280} . Para el cálculo de concentración se utilizó una curva de calibración utilizando BSA

como estándar y las concentraciones utilizadas fueron 0, 50, 150, 350, 500, 700, 850 y 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando procedimientos estándar para diseños de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas. Los resultados de cada ensayo fueron analizados mediante análisis de varianza (ANDEVA), luego de determinar igualdad de las varianzas (test de Levene), distribución normal de los residuos (test de Shapiro-Wilk) y no aditividad del modelo (test de Tukey de una vía). Se utilizó el software SAS University Edition (Statistical Analysis System, 2016) y el test DMS ($P = 0,05$).

RESULTADOS

Temperatura y radiación fotosintéticamente activa (PAR)

Para la temporada 2014/2015, el periodo de estrés hídrico se aplicó desde el día 365 del año 2014 hasta el día 20 del año 2015 (grano lechoso hasta madurez fisiológica). Durante este periodo se registraron temperaturas máximas desde 20,2 °C a 34,0 °C, con una media de 30,2 °C (Fig.2a). Las temperaturas mínimas registradas variaron entre 8,0 °C y 17,0 °C, con una media de 12,5 °C (Fig.2a). La temperatura promedio registrada para el periodo fue 21,1 °C. Se registró un máximo de radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés) de 1221,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un mínimo de 800,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con una media de 1183,4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig.2a). La precipitación total para el periodo fue de 3,3 mm.

En la temporada 2015/2016, en el ensayo al aire libre, el periodo de estrés se aplicó desde el día 352 del año 2015 hasta el día 11 del año 2016. Durante el día 352 de 2015 y el día 11 de 2016 se registraron temperaturas máximas desde 21,6 °C hasta 33,6 °C con una media de 28,6 °C (Fig.2b). Las temperaturas mínimas fluctuaron entre 3,6 °C y 16,2 °C con una media 11,1 °C (Fig.2b). La temperatura media registrada durante el periodo fue 19,5 °C. Se registró un máximo de PAR de 1218,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y el mínimo fue de 760,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con una media de 1078,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig.2b).

No se registraron precipitaciones durante el periodo de aplicación de estrés hídrico en el ensayo al aire libre.

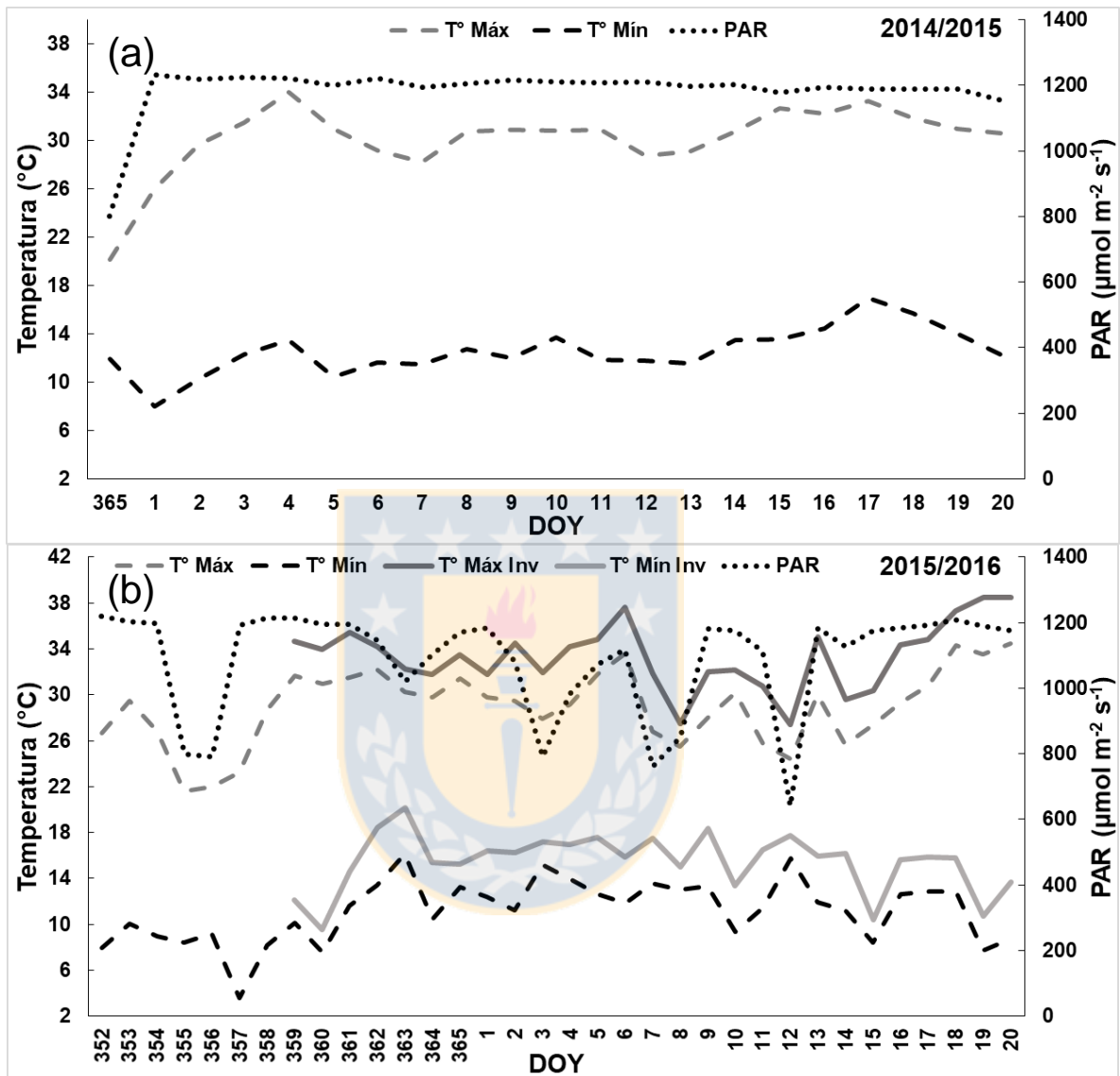


Figura 2. Temperaturas máximas, mínimas y radiación fotosintéticamente activa (PAR) registrada durante el periodo de estrés hídrico aplicado a plantas de quínoa durante la etapa de llenado de grano. **(a)** ensayo al aire libre temporada 2014/2015. **(b)** ensayo al aire libre e invernadero temporada 2015/2016. (Fuente: autoría propia a partir de datos recopilados de la Estación Climática de la Facultad de Ingeniería Agrícola de la Universidad de Concepción, Campus Chillán).

En el ensayo de invernadero el periodo de estrés hídrico fue aplicado entre el día 359 del año 2015 y el día 20 del año 2016. Durante el día 359 de 2015 y el día 20 de 2016 al interior del invernadero se registraron temperaturas máximas desde 27,4 °C hasta

38,5 °C, con una media de 33,4 °C (Fig.2b). Las temperaturas mínimas fluctuaron entre 9,5 °C y 20,2 °C, con una media 15,5 °C (Fig.2b). La temperatura media registrada durante el periodo fue 24,0 °C.

Contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v)

Para los ensayos de campo se determinó que el contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v) a capacidad de campo (CC) fue de 0,52 m³ m⁻³ de suelo. En tanto el punto de marchitez permanente (PMP) determinado fue de 0,25 m³ m⁻³. En tanto el θ_v en el invernadero fue de 0,33 m³ m⁻³ a CC y de 0,12 m³ m⁻³ para PMP (Fig.3).

Los θ_v máximos y mínimos por tratamiento y por genotipo están registrados en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido volumétrico de agua en el suelo θ_v (m³ m⁻³) máximo y mínimo registrado por tratamiento hídrico y por genotipo en cultivos *Ch. quinoa* expuestos a riego deficitario durante la temporada 2014/2015 y 2015/2016. (Fuente: elaboración propia).

	2014/2015		2015/2016		Invernadero	
	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.
Trat. Hídrico						
0	0,49	0,31	0,53	0,29	0,34	0,12
20	0,49	0,35	0,53	0,32	0,33	0,16
40	0,50	0,39	0,52	0,36	0,34	0,18
70	0,52	0,44	0,54	0,44	0,38	0,23
100	0,52	0,49	0,54	0,50	0,37	0,26
Genotipo						
Regalona	0,49	0,40	0,53	0,38	0,33	0,18
C	0,49	0,43	0,53	0,40	0,34	0,20
Cahuil	0,49	0,41	0,53	0,40	0,33	0,19
Morado	0,50	0,40	0,53	0,38	0,34	0,21

En la temporada 2014/2015 T70 fue regado el día 10 de 2015. A T40 se aplicó un riego el día de 12 de 2015. En T20 y T0 no fueron regados (Fig.3a).

Durante la temporada 2014/2015 todos los genotipos en estudios mostraron un comportamiento similar (Fig.3b). θ_v disminuyó desde un promedio de 0,50 m³ m⁻³ hasta 0,41 m³ m⁻³.

En el ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016 T70 fue regado 3 veces los días 355 y 362 de 2015 y el día 6 de 2016 (Fig.3c). T40 fue regado 2 veces, el día 360 de 2015 y el día 4 de 2016. T20 fue regado una vez el día 364 de 2015. T0 no fue regado.

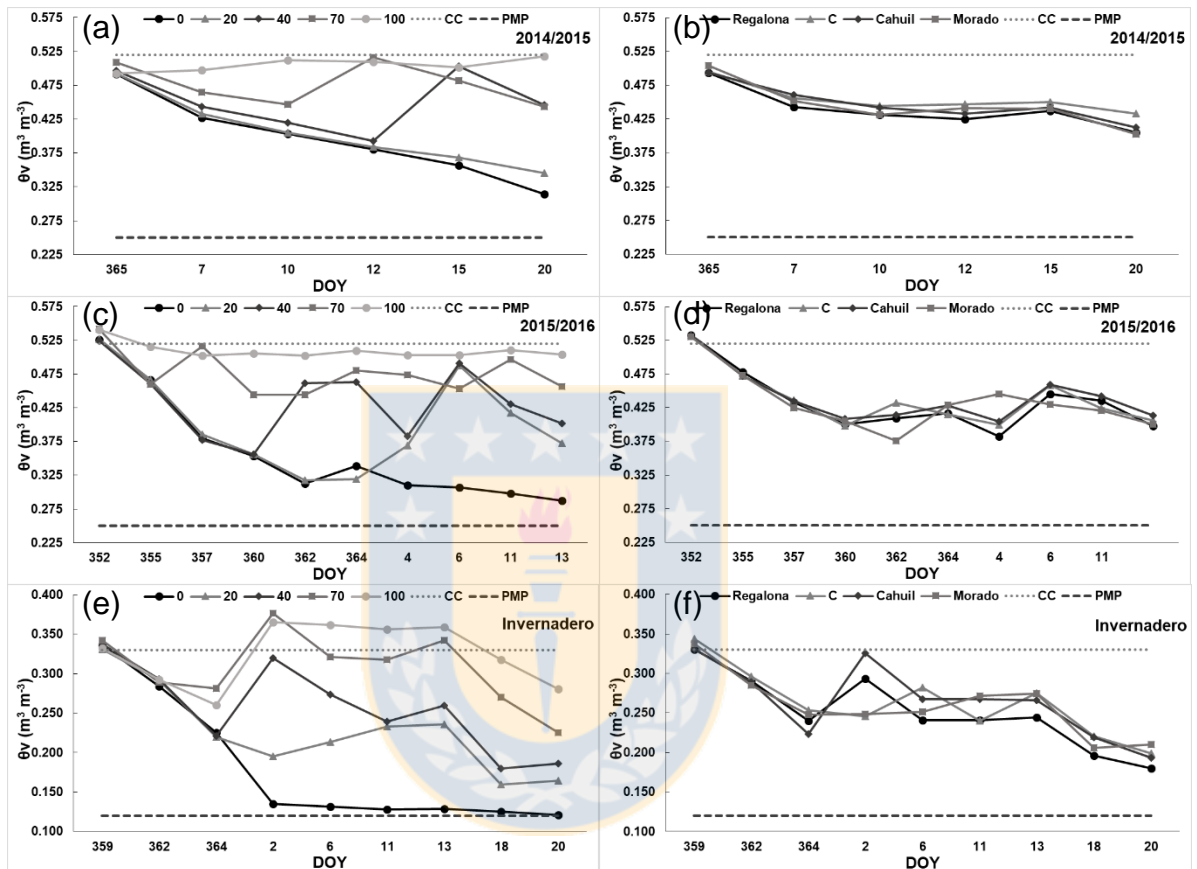


Figura 3. Contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v) registrado durante el periodo de estrés hídrico aplicado a plantas de quínoa durante la etapa de llenado de grano. **(a)** y **(b)**: valores medios de θ_v determinados para la temporada 2014/2015 por tratamientos hídricos y genotipos, **(c)** y **(d)**: valores medios de θ_v medidos para la temporada 2015/2016 por tratamientos hídricos y genotipos, **(e)** y **(f)**: valores medios de θ_v registrados para el ensayo de invernadero por tratamientos hídricos y genotipos. (Fuente: elaboración propia).

En el ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016 se registró valores similares de θ_v entre los diferentes genotipos, con una disminución desde $0,53 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ a $0,40 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ durante el periodo de estrés hídrico (Fig.3d).

Para el ensayo de invernadero (Fig.3e) T70 fue regado dos veces, el día 364 de 2015 y el día 11 de 2016. T40 fue regado dos veces el día 364 de 2015 y el día 11 de 2016. En tanto T20 fue regado el día 2 del año 2016 y T0 no fue regado.

Durante el periodo de aplicación de estrés hídrico en el ensayo de invernadero todos los genotipos en estudios mostraron un comportamiento similar. θ_v disminuyó desde un promedio de $0,37 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ hasta $0,20 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ (Fig.3f).

Potencial hídrico foliar (PHF)

Durante la temporada 2014/2015 se registró que el potencial hídrico foliar (PHF) para todos los tratamientos hídricos disminuyó desde una media de -1,05 MPa a -1,50 MPa (Fig.4a). Si bien entre los diferentes tratamientos hubo diferencias, todos los tratamientos siguieron la misma tendencia a la disminución (Fig.4a).

El PHF en T100 disminuyó desde -1,06 MPa a -1,47 MPa hasta el final del periodo de aplicación de estrés hídrico. T70 registró un PHF inicial de -1,01 MPa que disminuyó hasta -1,49 MPa. En tanto T40 mostró una variación desde -1,00 MPa hasta -1,50 MPa. T20 disminuyó desde -1,03 MPa hasta -1,55 MPa. T0 inicialmente registró un PHF de -1,13 MPa que disminuyó hasta -1,50 MPa hacia el final del periodo de aplicación de estrés hídrico (Fig.4a).

Los genotipos estudiados mostraron tendencia a la disminución similar a lo observado con los tratamientos hídricos (Fig.4b). Al inicio del periodo de estrés hídrico se registró un PHF de -1,04 MPa que disminuyó hasta -1,50 MPa. El día 358 del año 2014 se registró valores de PHF de -1,00 y -1,21 MPa para los genotipos C y Cahuil, respectivamente. Sin embargo, en el día 10 de 2015 los valores de PHF para C y Cahuil fueron de -1,38 y -1,57 MPa, respectivamente.

En la temporada 2015/2016, en el ensayo al aire libre se registró que el PHF para todos los tratamientos hídricos disminuyó desde un promedio de -1,17 MPa a -1,68 MPa (Fig.4c). Sin embargo, el día 2 de 2016 se registró un valor promedio de PHF de -1,85 MPa. Si bien entre los diferentes tratamientos hubo diferencias, todos los tratamientos siguieron tendencia a la disminución, inclusive T100 (control sin estrés hídrico) y a pesar que su PHF fuera superior a los otros tratamientos, mostró la misma

tendencia (Fig.4c). T100 registró un PHF inicial de -1,11 MPa que disminuyó hasta -1,56 MPa. T70 inicialmente registró un PHF de -1,21 MPa que disminuyó hasta -1,67 MPa hacia el final del periodo de aplicación de estrés hídrico. El PHF en T40 disminuyó desde -1,18 MPa a -1,74 MPa hasta el final del periodo de aplicación de estrés hídrico. En tanto, T20 mostró una variación desde -1,17 MPa hasta -1,72 MPa. T0 disminuyó desde -1,19 MPa hasta -1,70 MPa (Fig.4c).

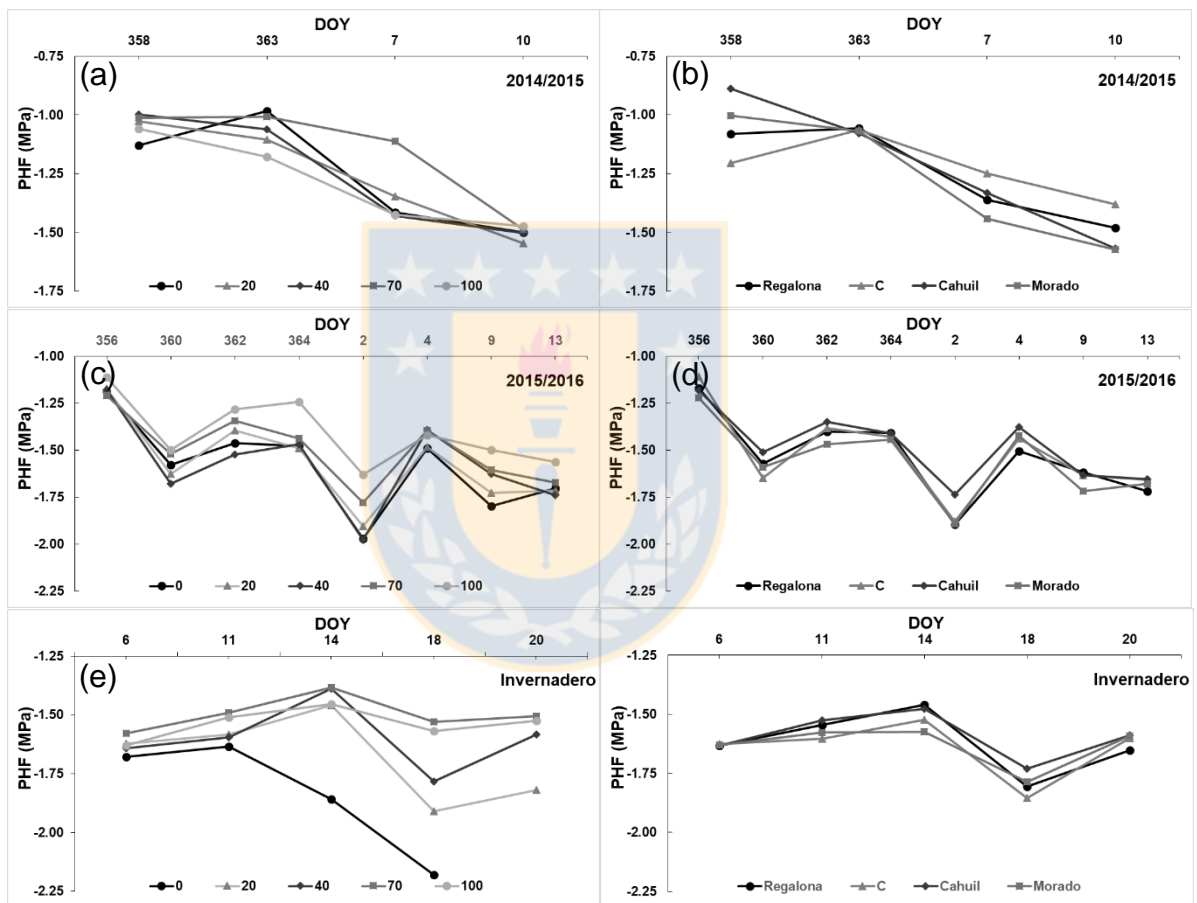


Figura 4. Potencial hídrico foliar (PHF) registrado durante el periodo de estrés hídrico aplicado a plantas de quínoa durante la etapa de llenado de grano. **(a)** y **(b)**: valores medios de PHF determinados para la temporada 2014/2015 por tratamientos hídricos y genotipos, **(c)** y **(d)**: valores medios PHF medidos para la temporada 2015/2016 por tratamientos hídricos y genotipos, **(e)** y **(f)**: valores medios de PHF registrados para el ensayo de invernadero por tratamientos hídricos y genotipos. (Fuente: elaboración propia).

Para los genotipos utilizados en el ensayo se registró una tendencia a la disminución similar a lo observado con los tratamientos hídricos (Fig.4d). Al inicio del periodo de estrés hídrico se registró un PHF de -1,17 MPa que disminuyó hasta -1,68 MPa. Sin embargo, para el día 2 del año 2016 se registró un PHF -1,85 MPa en todos los genotipos.

Para el ensayo en invernadero se registró que el PHF para todos los tratamientos hídricos varió desde un promedio de -1,63 MPa a -1,61 MPa (Fig.4e). Sin embargo, el comportamiento del PHF para T40, T20 y T0 a partir del día 11 de 2016 fue diferente al comportamiento de T100 y T70. Inclusive, posterior al día 18 de 2016 no se registró PHF para T0 ya que las plantas se encontraban fisiológicamente inactivas (Fig.4e).

T100 registró una variación de PHF de -1,63 MPa a -1,53 MPa hacia el final del periodo de estrés hídrico. En tanto, T70 mostró una variación desde -1,58 MPa hasta -1,51 MPa. El PHF en T40 varió desde -1,64 MPa a -1,58 MPa. T20 inicialmente registró un PHF de -1,62 MPa que disminuyó hasta -1,82 MPa hacía el final del periodo de aplicación de estrés hídrico. En tanto, T0 disminuyó desde -1,68 MPa hasta -2,18 MPa en el día 18 de 2016, posterior a esta fecha las plantas no presentaban actividad fisiológica por lo que el PHF no se registró (Fig.4e).

Los genotipos estudiados en el ensayo de invernadero al inicio del periodo de estrés hídrico registraron un valor promedio de PHF de -1,63 MPa que varió hasta -1,61 MPa. Todos los genotipos mostraron un comportamiento similar, donde se registró un aumento del PHF desde el día 6 al día 14 de 2016 y una disminución en el día 18 de 2016 (Fig.4f).

Rendimiento de semillas

Luego de la cosecha y trilla de las semillas del cultivo al aire libre se determinó que para la temporada 2014/2015 hubo un rendimiento promedio de 1480,10 kg ha⁻¹, en tanto para la temporada 2015/2016 se registró un rendimiento promedio de 2967,10 kg ha⁻¹. Para esta misma temporada en el ensayo de invernadero se determinó un rendimiento de semillas promedio de 4,05 g por planta.

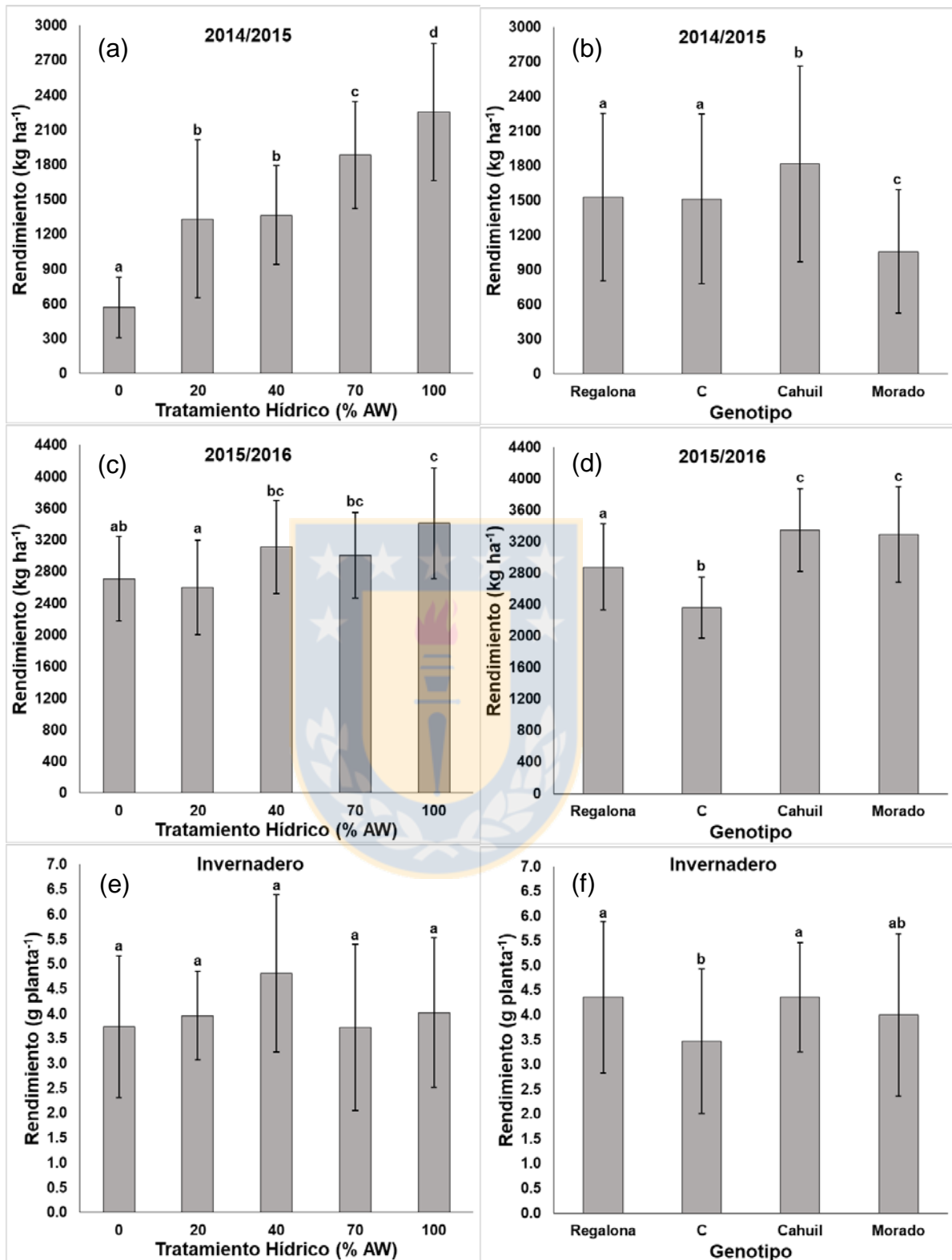


Figura 5. Rendimiento de semillas de plantas de quínoa sometidas a riego deficitario durante la etapa de llenado de grano: valores medios \pm la desviación estándar por tratamiento hídrico y por genotipo. **(a)** y **(b)**: temporada 2014/2015, **(c)** y **(d)**: temporada 2015/2016, **(e)** y **(f)**: ensayo de invernadero. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$). (Fuente: elaboración propia).

Para la temporada 2014/2015 el máximo rendimiento de semillas se registró para T100 con 2254,50 kg ha⁻¹ (Fig.5a). Se determinó diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) entre T100 y los demás tratamientos hídricos. Para T70 se registró un rendimiento de 1881,20 kg ha⁻¹, con diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto de los otros tratamientos. Para T40 y T20 se determinó un rendimiento de semillas de 1365,10 y 1331,00 kg ha⁻¹ respectivamente, con diferencias significativas ($P \leq 0,05$) con el resto de los tratamientos. T0 registró 568,70 kg ha⁻¹, con diferencias ($P \leq 0,05$) con los demás tratamientos (Fig.5a).

Para la temporada 2014/2015 el genotipo que registró el mayor rendimiento de semillas (1819,40 kg ha⁻¹) fue Cáhuil. El menor rendimiento se registró para Morado, con 1059,50 kg ha⁻¹ (Fig.5b).

En el ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016 se registró los mayores rendimientos de semillas para T100, T70 y T40 con 3409,60; 3008,00 y 3109,20 kg ha⁻¹, respectivamente (Fig.5c). Estos tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí ($P > 0,05$). T20 y T0 registraron un rendimiento de semillas de 2602,30 y 2706,3 kg ha⁻¹, sin diferencias entre sí ($P > 0,05$). T20 mostró diferencias ($P \leq 0,05$) respecto de T100, T70 y T40. En tanto, T0 mostró diferencias ($P \leq 0,05$) solo con T100 (Fig.5c).

Para el ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016 los genotipos en los cuales se determinó el mayor rendimiento fueron Cáhuil y Morado, con 3347,90 y 3288,30 kg ha⁻¹ (Fig.5d). En tanto, el menor rendimiento se determinó para el genotipo C con 2356,70 kg ha⁻¹ (Fig.5d).

En el ensayo de invernadero (Fig.5e) el mayor rendimiento de semillas se registró para T40, con 4,81 g por planta y menor se registró para T70, con 3,72 g por planta. Sin embargo, no se registró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Fig.5e).

En el ensayo de invernadero los genotipos que presentaron mayor producción de semillas fueron A, Cahuil y Morado con 4,36; 4,36 y 4,00 g por planta. En tanto C registró el menor con 3,47 g por planta (Fig.5f).

Proteínas totales

Se determinó un contenido de proteínas totales (PT) promedio de 13,42; 10,88 y 11,76 g 100 g⁻¹ de semillas en los ensayos 2014/2015, 2015/2016 e invernadero, respectivamente (Tab.2). El contenido observado para 2015/2016 fue 18,92% menor al registrado para 2014/2015 y 7,47% menor que el registrado para el ensayo de invernadero.

En la temporada 2014/2015 en mayor contenido de PT registrado fue en T40 (14,03 g 100 g⁻¹), pero no fue diferente ($P>0,05$) respecto de T100 y T70. Sin embargo, se determinó diferencias ($P\leq 0,05$) respecto a T20 y T0. El menor contenido observado fue para T20 con 12,47 g 100 g⁻¹ y no fue estadísticamente diferente a T70 y T0 (Tab.2). El contenido de PT registrado para T40 fue 1,35% mayor que el registrado para el control sin estrés hídrico (T100) y 7,70% mayor que el control sin riego (T0).

En tanto, el mayor contenido de PT registrado en la temporada 2014/2015 fue en el genotipo Morado con 13,87 g 100 g⁻¹. Morado solo fue diferente ($P>0,05$) al genotipo C, que registró el menor contenido de PT (12,43 g 100 g⁻¹) (Tab.2). El contenido de PT registrado para Morado fue un 10,38% mayor que el determinado para C.

En el ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016 se registró el máximo contenido de PT para T100 con 11,17 g 100 g⁻¹. El menor contenido registrado fue para T20 con 10,51 g 100 g⁻¹. Sin embargo, no se detectó diferencias ($P>0,05$) entre los tratamientos hídricos (Tab.2).

Para la temporada 2015/2016 el genotipo que presentó mayor contenido PT fue Morado (11,18 g 100 g⁻¹) y registró diferencias ($P\leq 0,05$) con Cahuil (Tab.2), con un contenido de PT 4,03% mayor.

En el ensayo de invernadero, el contenido de PT máximo registrado fue para T70 con 12,33 g 100 g⁻¹. Sin embargo, T70 no mostró diferencias ($P>0,05$) respecto a T100 (11,89 g 100 g⁻¹) (Tab.2). El menor contenido de PT se determinó para T0 (11,36 g 100 g⁻¹) y fue un 7,87% menor que el contenido determinado para T70.

Tabla 2. Proteínas totales en semillas ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de semillas) de *Ch. quinoa* expuestas a riego deficitario durante la temporada 2014/2015 y 2015/2016.

	2014/2015	2015/2016	Invernadero
Trat. Hídrico			
0	12,95 \pm 1,69 a	11,06 \pm 0,86 a	11,36 \pm 0,63 a
20	12,47 \pm 0,88 a	10,51 \pm 0,48 a	11,59 \pm 0,55 ab
40	14,03 \pm 0,88 b	10,84 \pm 0,79 a	11,61 \pm 0,67 ab
70	13,59 \pm 1,22 ab	10,81 \pm 0,66 a	12,33 \pm 0,88 c
100	13,84 \pm 0,96 b	11,17 \pm 0,69 a	11,89 \pm 0,74 bc
Genotipo			
Regalona	13,76 \pm 0,75 a	10,80 \pm 0,68 ab	11,41 \pm 0,59 a
C	12,43 \pm 1,21 b	10,80 \pm 0,85 ab	11,62 \pm 0,54 ab
Cahuil	13,60 \pm 1,39 a	10,73 \pm 0,58 a	11,96 \pm 0,89 bc
Morado	13,87 \pm 1,12 a	11,18 \pm 0,74 b	12,03 \pm 0,86 c
Promedio	13,42 \pm 1,24	10,88 \pm 0,73	11,76 \pm 0,76

Medias \pm la desviación estandar por tratamiento hídrico y por genotipos. 2014/2015: ensayo al aire libre de la temporada 2014/2015; 2015/2016: ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016. Invernadero: ensayo en invernadero de la temporada 2015/2016. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos hídricos y entre genotipos ($P \leq 0,05$). (Fuente: elaboración propia).

En el ensayo de invernadero el genotipo que mostró el mayor contenido de PT fue Morado con 12,03 $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de semillas. El contenido de PT de Morado fue un 5,15% superior al registrado en el genotipo A, que presentó el menor valor de PT en semillas (Tab.2).

Contenido de proteínas de reserva extraídas

Albuminas

El contenido promedio de albuminas extraídas de harina de quínoa fue de 33,0; 38,7 y 22,1 $\text{mg } \text{g}^{-1}$ de muestra en las temporadas 2014/2015, 2015/2016 e invernadero, respectivamente (Tab.3). El mayor contenido de albuminas en el ensayo de 2014/2015 se observó en T100 (35,1 $\text{mg } \text{g}^{-1}$) y el menor se registró para T20 y T0 (30,4 y 30,4

mg g⁻¹ respectivamente) (Tab.3). Entre los diferentes tratamientos hídricos no se observó diferencias estadísticamente significativas.

En la temporada 2014/2015 el genotipo con mayor contenido de albuminas fue Regalona (33,7 mg g⁻¹) y el menor contenido se registró para C, con 32,3 mg g⁻¹ de muestra. Sin embargo, entre los genotipos no se detectó diferencias estadísticamente significativas (Tab.3).

En el ensayo al aire libre 2015/2016 se observó el mayor contenido de albuminas para T100 y T70, con 43,5 y 41,5 mg g⁻¹, respectivamente. T100 presentó diferencias ($P \leq 0,05$) respecto de T40, T20 y T0. En tanto, el menor contenido de albuminas se registró en T40, T20 y T0 con 40,3; 35,7 y 32,3 mg g⁻¹ respectivamente (Tab.3).

El mayor contenido de albuminas durante la temporada 2015/2016 lo registró el genotipo Regalona (41,3 mg g⁻¹). Sin embargo, Regalona fue estadísticamente diferente a Cahuil ($P \leq 0,05$) que registró el menor contenido de albuminas (36,3 mg g⁻¹) (Tab.3).

El contenido de albuminas promedio registrado en el invernadero fue 33,0% menor al ensayo al aire libre 2014/2015 y 42,9% menor que 2015/2016. El mayor contenido de albuminas extraídas en el ensayo de invernadero se registró para T100 con 23,5 mg g⁻¹. Sin embargo, T100 registró diferencias significativas ($P \leq 0,05$) solo con T0, que presentó el menor contenido de albuminas (20,3 mg g⁻¹) (Tab.3).

En el ensayo de invernadero los genotipos que registraron el mayor contenido de albuminas fueron A, Cahuil y Morado con 23,1; 21,3 y 23,1 mg g⁻¹, respectivamente. El menor contenido se registró en C con 20,9 mg g⁻¹, que solo mostró diferencias ($P \leq 0,05$) con Regalona (Tab.3).

Globulinas

El contenido promedio de globulinas extraídas fue de 34,3; 40,0 y 32,9 mg g⁻¹ de muestra en los ensayos de 2014/2015, 2015/2016 e invernadero respectivamente.

En la temporada 2014/2015 el mayor contenido de globulinas se observó en T70 (37,2 mg g⁻¹). El menor contenido se determinó para T0, con 32,3 mg g⁻¹. Sin embargo, entre los tratamientos no se determinó diferencias estadísticamente significativas (Tab.3).

Tabla 3. Fracciones de proteínas de reserva extraídas (mg g⁻¹ de muestra) de *Ch. quinoa* expuestas a riego deficitario durante la temporada 2014/2015 y 2015/2016.

	Albuminas			Globulinas			Otras proteínas solubles		
	2014/2015	2015/2016	Invernadero	2014/2015	2015/2016	Invernadero	2014/2015	2015/2016	Invernadero
Trat. Hídrico									
0	30,4 ± 6,6 a	32,3 ± 6,9 a	20,3 ± 4,6 a	32,3 ± 7,6 a	39,4 ± 6,6 a	32,8 ± 3,3 a	45,5 ± 7,5 a	38,3 ± 4,7 a	45,3 ± 5,2 a
20	30,4 ± 6,2 a	35,7 ± 11,8 ab	21,5 ± 4,1 ab	32,9 ± 12,1 a	36,7 ± 7,5 a	32,1 ± 5,2 a	50,7 ± 6,2 b	39,3 ± 7,2 a	45,3 ± 4,2 a
40	35,0 ± 8,3 a	40,3 ± 6,3 ab	22,3 ± 2,2 ab	36,5 ± 10,7 a	39,5 ± 6,2 a	33,8 ± 4,5 a	51,1 ± 9,6 b	41,8 ± 9,2 a	46,3 ± 5,3 a
70	34,0 ± 7,1 a	41,5 ± 7,5 bc	22,9 ± 2,4 ab	37,2 ± 12,3 a	40,2 ± 8,3 a	31,6 ± 4,4 a	50,5 ± 7,4 b	46,1 ± 8,5 a	46,6 ± 6,1 a
100	35,1 ± 8,9 a	43,5 ± 8,7 c	23,5 ± 2,8 b	32,5 ± 10,9 a	44,1 ± 7,6 a	34,2 ± 5,0 a	50,5 ± 11,6 b	43,5 ± 8,4 a	45,1 ± 7,8 a
Genotipo									
Regalona	33,7 ± 8,1 a	41,3 ± 10,0 a	23,1 ± 2,6 a	35,9 ± 12,9 a	38,6 ± 6,5 a	34,3 ± 4,7 a	50,3 ± 10,2 a	41,6 ± 7,2 a	43,6 ± 4,4 a
C	32,3 ± 6,5 a	37,0 ± 9,0 ab	20,9 ± 3,1 b	31,3 ± 9,4 a	38,7 ± 7,9 a	32,8 ± 5,3 a	48,8 ± 6,2 a	43,4 ± 10,2 a	45,8 ± 5,1 ab
Cahuil	33,0 ± 8,7 a	36,3 ± 9,6 b	21,3 ± 3,4 ab	36,2 ± 10,3 a	40,3 ± 7,6 ab	32,5 ± 3,9 a	50,2 ± 8,4 a	39,7 ± 7,3 a	45,3 ± 5,5 a
Morado	32,9 ± 7,5 a	40,1 ± 8,0 ab	23,1 ± 4,3 ab	33,5 ± 10,1 a	42,4 ± 7,8 b	32,0 ± 4,1 a	49,4 ± 10,0 a	42,5 ± 7,4 a	48,1 ± 7,0 b
Promedio	33,0 ± 7,6	34,3 ± 10,8	49,7 ± 8,7	38,7 ± 9,2	40,0 ± 7,5	41,8 ± 8,1	22,1 ± 3,5	32,9 ± 4,5	45,7 ± 5,7

Medias ± la desviación estandar por tratamiento hídrico y por genotipos. 2014/2015: ensayo al aire libre de la temporada 2014/2015; 2015/2016: ensayo al aire libre de la temporada 2015/2016. Invernadero: ensayo en invernadero de la temporada 2015/2016. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos hídricos y entre genotipos ($P \leq 0,05$). (Fuente: elaboración propia).

En la temporada 2014/2015 en el genotipo Cahuil se obtuvo el mayor contenido de globulinas con $36,2 \text{ mg g}^{-1}$ y en C se determinó el menor contenido, con $31,3 \text{ mg g}^{-1}$. Sin embargo, no se registró diferencias ($P > 0,05$) entre los genotipos (Tab.3).

En el ensayo al aire libre 2015/2016 se registró el mayor contenido de globulinas en T100 ($44,1 \text{ mg g}^{-1}$). El menor contenido se registró para T20, con $36,7 \text{ mg g}^{-1}$. Sin embargo, no se registró diferencias ($P > 0,05$) entre los tratamientos hídricos (Tab.3).

El genotipo que presentó mayor contenido de globulinas para la temporada 2015/2016 fue Morado con $42,4 \text{ mg g}^{-1}$ y fue estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$) a Regalona y C. El menor contenido se registró en Regalona con $38,6 \text{ mg g}^{-1}$.

En el ensayo de invernadero el mayor contenido de globulinas se registró en T100, con $34,2 \text{ mg g}^{-1}$, el y menor contenido se registró en T70 con $31,6 \text{ mg g}^{-1}$. Entre los diferentes tratamientos hídricos no se registró diferencias estadísticamente significativas (Tab.3).

En el ensayo de invernadero el genotipo que presentó mayor contenido de globulinas fue A, con $34,3 \text{ mg g}^{-1}$ y el con el menor contenido fue Morado, con $32,0 \text{ mg g}^{-1}$ de globulinas. Sin embargo, el contenido de globulinas no mostró diferencias estadísticamente significativas entre genotipos (Tab.3).

Otras proteínas solubles

En la fracción de otras proteínas solubles (Tab.3) se cuantificó un contenido promedio de $49,7$; $41,8$ y $45,7 \text{ mg g}^{-1}$ para los ensayos de 2014/2015, 2015/2016 e invernadero, respectivamente.

En la temporada 2014/2015 el mayor contenido se registró en T40, con $51,1 \text{ mg g}^{-1}$. Sin embargo, T40 solo fue estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$) con T0, cuyo contenido de otras proteínas solubles fue el menor ($45,5 \text{ mg g}^{-1}$) (Tab.3).

En la temporada 2014/2015 el genotipo que registró mayor contenido de otras proteínas solubles fue A. Sin embargo, no se registró diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos estudiados (Tab.3).

En el ensayo al aire libre 2015/2016 se registró el máximo contenido de otras proteínas solubles en T70 ($46,1 \text{ mg g}^{-1}$), no se registró diferencias significativas ($P>0,05$) entre los tratamientos hídricos (Tab.3).

En el ensayo 2015/2016 el mayor contenido de otras proteínas se observó en el genotipo C, con $43,4 \text{ mg g}^{-1}$. Sin embargo, entre los genotipos no se detectó diferencias significativas (Tab.3).

En el ensayo de invernadero el máximo contenido de otras proteínas solubles se registró en T70, con $46,6 \text{ mg g}^{-1}$. Sin embargo, no se registró diferencias significativas ($P>0,05$) entre los tratamientos hídricos (Tab.3).

El genotipo que presentó el mayor contenido de otras proteínas solubles en el ensayo de invernadero fue Morado, con $48,1 \text{ mg g}^{-1}$, que fue estadísticamente diferente ($P\leq 0,05$) a los genotipos Regalona y Cáhuil.

DISCUSIÓN

Respuesta fisiológica en plantas de quínoa al estrés ambiental

El contenido de agua en plantas de quínoa depende de la temperatura ambiental y de la disponibilidad hídrica en el suelo (Razzaghi *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2014; Zurita-Silva *et al.*, 2013). Como se observa en la Fig.4 se produjeron variaciones en el PHF. Las variaciones en los ensayos al aire libre (Fig.4a-d), al ser contrastadas con las condiciones hídricas del suelo (Fig.3a-d), no mostraron una correlación entre los parámetros. Sin embargo, al contrastar el PHF (Fig.4e y f) con el contenido volumétrico de agua en el ensayo de invernadero (Fig.3 e y f) fue posible establecer cierta relación entre los parámetros. Posiblemente, al cultivar quínoa en macetas, en el ensayo de invernadero, se limitó el crecimiento del sistema radicular, permitiendo así que la planta solo pudiese desarrollarse en proporción al agua disponible en la maceta. Por el contrario, al considerar solamente los ensayos al aire libre, las raíces de las plantas podrían haber explorado el suelo en busca de recursos hídricos, con el fin de tolerar el riego deficitario. Se ha documentado que las plantas de quínoa desarrollan morfología de raíz diferencial al ser expuestas a sequía, alcanzando profundidades de exploración

y ramificaciones mayores a las plantas normalmente irrigadas (Zurita-Silva *et al.*, 2013).

Por otro lado, al contrastar las condiciones ambientales de los ensayos al aire libre (2014/2015 y 2015/2016) (Fig.2) con la respuesta del PHF (Fig.4a-d), es posible establecer una relación respecto de las variaciones en el parámetro. Para 2014/2015 al observar el PHF (Fig.4a y b), es probable que la disminución sostenida de este esté dada por altas temperaturas máximas y alta radiación fotosintéticamente activa (PAR) sostenida durante el periodo de estrés hídrico (Fig.2a). En tanto, las fluctuaciones del PHF que se observaron para 2015/2016 (Fig.4 c y d) pueden estar dadas por los periodos en donde disminuyó la temperatura máxima y la PAR (Fig.2b). Se ha descrito una estrecha relación entre el estrés térmico y el PHF (Ehrler *et al.*, 1978; Razzaghi *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2014). Esto, además, es corroborado por las fluctuaciones de PHF que se registraron inclusive en los tratamientos sin riego deficitario o con riego deficitario de baja intensidad (T100 y T70, Fig.4).

Al disponer la planta de menor cantidad de recursos hídricos, ya sea originado por el riego deficitario o por estrés térmico, esto repercute en la producción de semillas y en la composición de elementos nutricionales que se encuentra en ella (Castrillo *et al.*, 2001; Reddy *et al.*, 2004). Principalmente, la sequía severa (Keyantash y Dracup, 2002) provoca daño en la maquinaria celular implicada en la síntesis de proteínas solubles, particularmente los niveles de síntesis de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxidasa (RuBisCo, una de las proteínas involucradas en la asimilación de carbono), se ve afectada (Reddy *et al.*, 2004). Como consecuencia de la sequía se reduce la tasa de fotosíntesis, por lo cual la síntesis de metabolitos secundarios también se ve afectada. Sin embargo, existen antecedentes de que ciertos cultivos altamente dependientes de los recursos hídricos, como maíz y tomate, resisten periodos de sequía moderada, sin mayores efectos sobre la tasa de fotosíntesis y síntesis de metabolitos (Castrillo *et al.*, 2001; Reddy *et al.*, 2004). En tanto *Ch. quinoa* tiene la capacidad de ajustar sus parámetros fisiológicos de tal forma que es capaz de tolerar sequía severa (Bosque Sanchez *et al.*, 2003; Keyantash y Dracup, 2002).

En cultivos como maíz y sorgo la exposición sostenida a radiación sobre $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ disminuye el potencial hídrico foliar (Acevedo *et al.*, 1979). También, los

altos niveles de radiación durante la temporada seca producen una disminución del rendimiento en cultivos como trigo y arroz (Bouman y Tuong, 2001; Jarvis, 1976). La alta radiación induce el cierre estomático, disminuyendo el transporte de agua en las plantas (Blum, 2005). Considerando esto, al observar las variaciones de PHF registradas en los ensayos al aire libre de las temporadas 2014/2015 y 2015/2016 (Fig.4a, c), estas se podrían atribuir a la alta radiación que se registró durante el periodo de restricción hídrica en 2014/2015 (Fig.2a) y las fluctuaciones de radiación registradas durante 2015/2016 (Fig.2b).

Al inicio del periodo de riego deficitario fue posible observar algunas diferencias en el PHF entre los genotipos estudiados en la temporada 2014/2015 (Fig.4b). Sin embargo, se pudo observar la misma tendencia de disminución de este hacia el final del periodo de sequía. En la temporada 2015/2016 y en invernadero el PHF disminuyó y aumentó en la misma proporción para todos los genotipos (Fig.4d, f).

Considerando que *Ch. quinoa* es una especie con amplia variabilidad genética (Bazile *et al.*, 2014; Zurita-Silva *et al.*, 2014) y los genotipos son morfológicamente diferentes, con la misma tendencia de respuesta, se podría pensar que el incremento y disminución de PHF es una respuesta que se repite en los cuatro genotipos analizados.

Teóricamente, las plantas cultivadas al aire libre sin estrés por sequía durante todo el ensayo (T100) en las dos temporadas (Fig.3a, c) deberían haber registrado valores de PHF con fluctuaciones menores respecto de la medición inicial, siguiendo un patrón similar a lo que se observó para el ensayo de invernadero (Fig.4e). Sin embargo, al final del periodo de restricción hídrica, las plantas de T100 registraron valores de PHF similares a las plantas de T40 (temporada 2015/2016, Fig.4c) e inclusive a los registrados en T20 y T0 (temporada 2014/2015, Fig.4a).

La disminución del PHF en T100 y eventualmente en T70 (Fig.4a, c) podría atribuirse a un exceso de humedad en el suelo, puesto que la quínoa es una especie altamente tolerante al estrés por sequía (Bosque Sanchez *et al.*, 2003; Razzaghi *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2014; Zurita-Silva *et al.*, 2013). Este exceso de humedad en el suelo podría, eventualmente, provocar estrés por anegamiento en las plantas, lo que genera

problemas de oxigenación en la rizósfera, incremento de la concentración de ácido abscísico, acumulación de compuestos tóxicos y cierre de estomas, que finalmente podría disminuir las tasas de transporte de agua en la planta, afectando el PHF (Li *et al.*, 2007; Sasidharan y Voeselek, 2015; Yordanova *et al.*, 2005).

En diversas especies de plantas como consecuencia del anegamiento disminuye el PHF a consecuencia del funcionamiento deficiente del sistema radicular (Pezeshki, 2001). Sin embargo, se ha reportado que la quínoa es una especie tolerante al anegamiento, pudiendo ser cultivada en zonas donde ocurren anegamientos de corta duración (Aguilar y Jacobsen, 2003; Geerts *et al.*, 2008; Jacobsen *et al.*, 2003). Aunque no existen antecedentes de los efectos fisiológicos, particularmente sobre el transporte hídrico, que el anegamiento produce en la quínoa.

Cambios en el rendimiento de semillas frente al estrés ambiental

La producción de semillas es sensible a estrés hídrico, ya que la distribución de los recursos limitados en la planta pueden afectar el rendimiento del cultivo (Bascañán-Godoy *et al.*, 2016; Yi *et al.*, 2014). En el estudio se determinó que el rendimiento de semillas en la temporada 2014/2015 fue afectado por el riego deficitario (Fig.5). Así, el rendimiento de T40 fue un 39,4% menor respecto al control sin estrés hídrico. En el ensayo 2015/2016 al aire libre, el rendimiento de T40, T70 y T100 no presentó diferencias ($P > 0,05$). El rendimiento de semilla en 2014/2015 podría asociarse a condiciones ambientales de alta temperatura (temperatura media de 30,2 °C) y radiación sostenida (Fig.2a). Se ha documentado que el efecto combinado de estrés hídrico y salino afectan el rendimiento de semillas de quínoa y otras especies (Bosque Sanchez *et al.*, 2003; Farooq *et al.*, 2011; Walsh *et al.*, 2015).

El rendimiento de semillas por planta en el ensayo de invernadero (Fig.5e) no fue afectado por el déficit hídrico. Sin embargo, la producción de semillas en todos los tratamientos pudo haber sido afectada por la alta temperatura registrada durante el periodo de cultivo (Fig.2b). La alta temperatura disminuye el rendimiento en cultivos de trigo, maíz y arroz, siendo un efecto se ha observado como respuesta general en plantas (Kishor *et al.*, 2005; Parchin y Shaban, 2014; Wang *et al.*, 2008, 2003). Particularmente se ha descrito que los eventos de estrés por alta temperatura durante

las etapas cercanas a la antesis, inclusive cuando son de corta duración, producen una disminución importante del rendimiento de grano en cereales (Eyshi Rezaei *et al.*, 2015).

La alta radiación solar a las que son expuestos los cultivos tiene grandes impactos sobre la producción (Deng *et al.*, 2015). En maíz, arroz, sorgo y soya se ha detectado que una radiación excesiva puede disminuir el rendimiento del cultivo (Andrade *et al.*, 2002; Deng *et al.*, 2015; Tollenaar y Lee, 2002). Sin embargo, la quínoa es una especie altamente tolerante a la alta radiación, probablemente debido a que las centros de origen de la especie son zonas con alta intensidad de radiación (Aguilar y Jacobsen, 2003; Bazile *et al.*, 2014; Jacobsen, 2003).

Tanto en los ensayos al aire libre como en invernadero el genotipo Cahuil presentó el mayor rendimiento de semillas (Fig.5b, d, f), aunque este no fue estadísticamente diferente ($P > 0,05$) de Morado (temporada 2015/2015, Fig.5d) y de Morado y Regalona (invernadero, Fig.5f). *Ch. quinoa* es una especie que presenta gran variabilidad genética (Bazile *et al.*, 2014; Zurita-Silva *et al.*, 2014) por lo que es esperable tener diferentes rendimientos de semillas entre los genotipos al ser cultivados en diferentes regímenes hídricos. Sin embargo, si se considera que para la temporada 2014/2015, Cáhuil registró el mayor rendimiento, que fue estadísticamente diferente de los otros genotipos ($P \leq 0,05$), se podría pensar que este genotipo podría tener el mejor comportamiento productivo frente a diferentes regímenes de riego.

Cambios en el contenido de proteínas totales frente a estrés ambiental

Los valores promedio de proteínas totales fluctuaron entre 10,88 y 13,42 g 100 g⁻¹ de semilla (Tab.2). Los valores determinados fueron menores a algunos reportados para quínoa (14 a 16 g 100 g⁻¹) (Föste *et al.*, 2015; Koziol, 1992; Navarro-Lisboa *et al.*, 2017). Esta diferencia, en parte, podría ser explicada por la alta variabilidad genética observada en *Ch. quinoa* (Bascañán-Godoy *et al.*, 2016; Bazile *et al.*, 2014; Zurita-Silva *et al.*, 2014). Como consecuencia, potencialmente se podría observar una alta variabilidad en un carácter como la acumulación de proteínas totales.

Por otro lado, la mayoría de los estudios donde se analiza el contenido de proteínas en semillas de quínoa utiliza el factor de conversión de nitrógeno a proteína estándar:

6,25. Sin embargo, Fujihara *et al.* (2008) determinaron que el factor para conversión de nitrógeno total a proteína en semillas de quínoa es 5,39, basado en el análisis de la composición de aminoácidos de la fracción proteica de quínoa. Por ende, la utilización del factor 6,25 podría inducir a una sobreestimación de los contenidos de proteína total y, por ello, no concordar con los resultados obtenidos en este estudio, en el cual se usó el factor 5,39. Otros estudios, que utilizan factores de conversión más cercanos al señalado por Fujihara *et al.* (2008), han determinado un contenido de proteína total en semilla de quínoa entre 11,7 a 12,5 g 100 g⁻¹ (Watanabe *et al.*, 2003), los cuales son valores similares a los determinados en este estudio.

En la temporada 2014/2015 y en el ensayo de invernadero se determinó un incremento en las proteínas totales en semillas para T40 y T70 (Tab.2). Esto, en parte, se podría atribuir a una estrategia, donde se gatillas la síntesis de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres en la semilla que actúan como secuestradores de especies reactivas de oxígeno (ROS) y como compuestos osmóticamente activos, que estabilizan la estructura de los componentes celulares frente a estrés hídrico (Bascañán-Godoy *et al.*, 2016; Bosque Sanchez *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2014).

Sin embargo, esta mayor acumulación de metabolitos en semillas es un mecanismo ecofisiológico de compensación, puesto que otros parámetros pueden verse afectados, entre ellos el rendimiento de semillas, como se aprecia en la Fig.5 (Gambín y Borrás, 2010; Li *et al.*, 2011). Por ejemplo, en algunos genotipos de trigo cultivado en condiciones de estrés por sequía, se ha detectado un incremento de las proteínas totales, asociado a una disminución de la altura de las plantas, el peso volumétrico de granos, el largo del pedúnculo, peso de granos, diámetro de grano y rendimiento de grano (Li *et al.*, 2011). Por este motivo, respecto de la estrategia de riego utilizada para el cultivo, además de la determinación del punto de compensación entre el rendimiento de semilla y su calidad, es necesario seleccionar genotipos que al ser cultivados en condiciones de estrés hídrico, muestren la menor disminución de rendimiento al aumentar la acumulación de metabolitos en las semillas.

A pesar del incremento de proteínas totales que se observó en 2014/2015 y en el ensayo de invernadero en T70 y T100, para el ensayo al aire libre 2015/2016 no se observó la misma tendencia (Fig.5a, c, Tab.2). Esto indicaría que la acumulación de

proteínas en la semilla, al ser una estrategia compleja, no responde solamente a la presión de un solo factor ambiental, como la disponibilidad hídrica en este caso en particular (Farooq *et al.*, 2011; Hand *et al.*, 2011). Por ende, es necesario realizar estudios más acotados para determinar la estabilidad de esta respuesta en diferentes escenarios ambientales.

La disminución en el contenido de proteínas totales de la temporada 2015/2016 respecto de 2014/2015 e invernadero, pudiese ser compensada con una mayor acumulación de albuminas y globulinas (Tab.2, Tab.3). Esto podría indicar que, a pesar de disminuir la acumulación de proteínas en el grano, se sintetizó una mayor cantidad de proteínas solubles del tipo albuminas y globulinas. Probablemente esto pudo haber sido consecuencia de la mayor variación en las temperaturas máximas y mínimas y cambios en la intensidad de radiación fotosintéticamente activa. Sin embargo, para comprender el motivo de este cambio y determinar si este comportamiento tiene efectos sobre la eficiencia nutricional de las fracciones de proteínas es necesario investigar con más profundidad la composición de las proteínas y como cambian en respuesta al estrés hídrico.

Tanto en los ensayos al aire libre como en invernadero el genotipo que presentó el mayor contenido de proteínas fue Morado. A pesar de que en la temporada 2014/2015 este no fue estadísticamente diferente de Regalona y Cáhuil ($P > 0,05$), en la temporada 2015/2016 solo fue estadísticamente diferente de Cáhuil ($P \leq 0,05$) y en invernadero fue estadísticamente diferente de Regalona y C ($P \leq 0,05$) (Tab.2). Esto podría indicar que Morado tiene el potencial genético para producir una cantidad de proteínas mayor a la de otros genotipos estudiados. La cantidad de proteínas reportada para Morado es similar o mayor a la que se ha reportado para otros genotipos ($\sim 11 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de semilla) (Föste *et al.*, 2015; Watanabe *et al.*, 2003), aunque si se considera la corrección de factor de conversión de nitrógeno total a proteína, este valor podría ser mayor al que se reporta para otros genotipos. Por lo que se podría considerar a Morado como un genotipo que es capaz de acumular mayor cantidad de proteínas, inclusive en condiciones de estrés hídrico.

Efectos ambientales sobre la acumulación de proteínas de reserva en semilla

Las condiciones ambientales pueden incrementar o disminuir la acumulación de determinados metabolitos en semillas, tales como antioxidantes, carbohidratos de reserva y proteínas, ya que mayormente afecta la distribución de moléculas y elementos asimilados en la planta (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016; McDowell, 2011; Parchin y Shaban, 2014).

En algunos casos, el estrés hídrico puede incrementar la acumulación de metabolitos en semillas, como una estrategia ecofisiológica para mejorar las condiciones nutricionales que quedaran disponibles al embrión cuando ocurre la germinación de estas (Blum, 2011; Fábían *et al.*, 2011; Farooq *et al.*, 2011; Parchin y Shaban, 2014). En especies anuales, tales como trigo (Li *et al.*, 2011; Parchin y Shaban, 2014), sorgo (Yi *et al.*, 2014), arroz (Jeong *et al.*, 2010; You *et al.*, 2014), soya (Arumingtyas *et al.*, 2013) y quínoa (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016; Carjuzaa *et al.*, 2008) se ha detectado incrementos en la acumulación de proteínas y otros metabolitos en semillas.

En el estudio se determinó que la fracción de albuminas representa el 24,6; 35,5 y 18,8% de las proteínas totales en semillas para 2014/2015, 2015/2016 e invernadero, respectivamente. Los valores para los ensayos al aire libre fueron similares a lo reportado en la literatura (28,5% de la fracción proteica, es decir, 33,3 a 35,6 mg g⁻¹) (Watanabe *et al.*, 2003). Mientras que el ensayo de invernadero se acumuló menos albuminas en la semilla, respecto de los ensayos al aire libre (Tab.3). Esto se podría atribuir a las condiciones del ensayo, con temperaturas máximas al interior del invernadero que oscilaron entre 27,4 y 38,5 °C. Se ha determinado que el estrés térmico por altas temperaturas cambia la composición proteica de grano de trigo, favoreciendo la síntesis y acumulación de proteínas y polipéptidos regulada por ácido abscísico o inducidas por golpes térmicos (HSP, por sus siglas en inglés) (Laino *et al.*, 2010). La temperatura más alta en el ensayo de invernadero probablemente redujo la síntesis y acumulación de albuminas, siendo compensado con una mayor acumulación de proteínas no solubles, las cuales pueden haber ayudado a mantener las funciones celulares y bioquímicas. De esta manera, las plantas podrían tolerar estas mayores temperaturas (Farooq *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2003). O bien, en desmedro de las

albuminas se podrían haber sintetizando péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres, osmóticamente activos (Bascañán-Godoy *et al.*, 2016).

Se ha descrito que en *Ch. quinoa*, expuesta a estrés hídrico, se producen cambios a nivel fisiológico en la redistribución de nitrógeno y carbono (Bascañán-Godoy *et al.*, 2016). Estos cambios son más o menos conservados en especies de hábito anual (He *et al.*, 2012; Xiao *et al.*, 2007; Yi *et al.*, 2014). En algunos genotipos de quínoa el estrés hídrico estimula la vía de la ornitina (involucrada en la asimilación de amonio y potencialmente involucrada en mecanismos de tolerancia al estrés hídrico) y la vía de la rafinosa (la cual aumenta al disminuir la concentración de almidón, se relaciona a funciones osmo-regulatorias y actúa como molécula secuestradora de especies reactivas de oxígeno) (Bascañán-Godoy *et al.*, 2016). Como consecuencia se acumulan más proteínas de bajo peso molecular y aminoácidos libres, además de una mayor cantidad de carbohidratos libres (que podrían tener activada antioxidante) en las semillas de plantas expuestas a sequía.

Se determinó que las globulinas representan el 25,5; 36,6 y 28,0% de las proteínas totales en semillas para 2014/2015, 2015/2016 e invernadero, respectivamente. Estos valores fueron similares a los reportados en la literatura (31 a 37% de la fracción de proteínas totales) (Drzewiecki *et al.*, 2003; Lamacchia *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 2003). El máximo contenido de globulinas (44,1 mg g⁻¹) fue detectado en la temporada 2015/2016 para T100 (37,1% de las proteínas totales). Sin embargo, cabe destacar que en general las globulinas solubles se extraen con tampones con NaCl. Sin embargo, en este estudio se utilizó tampón Tris-borato, pH 8,9, que es más eficiente en la extracción de proteínas del tipo globulinas debido a que aumenta la solubilidad y estabilidad de estas (Stegemann y Pietsch, 1983; Wilckens *et al.*, 1996). Por ende, las diferencias metodológicas pudiesen producir diferencias en cantidad obtenida de proteínas de esta fracción, respecto de los valores que se reportan en la literatura.

Las fracciones de albuminas y globulinas de reserva son ricas en lisina y otros aminoácidos esenciales. Particularmente, la quínoa contiene gran cantidad de estos aminoácidos en las fracciones de albuminas y globulinas (Fairbanks *et al.*, 1990; Navarro-Lisboa *et al.*, 2017; Watanabe *et al.*, 2003), a diferencia de otros cultivos, como el trigo, que contiene menos lisina, otros aminoácidos esenciales, albuminas y

globulinas. En el caso del trigo, las albuminas representan tan solo el 20% de la proteína total (Laino *et al.*, 2010). Sin embargo, en este estudio se determinó que las albuminas pueden representar en promedio hasta el 35,5% de la fracción proteica soluble de las semillas de quínoa (temporada 2015/2016), con un valor máximo de 38,9% en T100, temporada 2015/2016.

Para la cuantificación de otras proteínas solubles no se pudo utilizar el método de Bradford debido a la interferencia del SDS y 2-ME con el colorante Coomassie Brilliant Blue G-250 (Candiano *et al.*, 2004). Por lo tanto, se utilizó uno basado en la absorbancia de luz ultravioleta de los anillos aromáticos presentes en las proteínas (Simonian y Smith, 2001). La fracción de otras proteínas solubles mostró ligeras diferencias entre los tratamientos hídricos. Solo en la temporada 2014/2015 T0 fue diferente ($P \leq 0,05$) del resto de los tratamientos hídricos.

La fracción de otras proteínas solubles se ha reportado que está compuesta, principalmente, por gluteninas (también referidas como glutelinas) y gliadinas (también referidas como prolaminas) (Koziol, 1992; Repo-Carrasco *et al.*, 2003; Watanabe *et al.*, 2003). En algunos casos se ha reportado que esta fracción, en conjunto con las proteínas insolubles, puede representar desde el 30 al 60% de la proteína total de las semillas de quínoa (Koziol, 1992; Watanabe *et al.*, 2003). Principalmente la fracción de otras proteínas solubles contiene proteínas con funciones estructurales, entre las que se encuentra lipoproteínas y glucoproteínas que para ser solubilizadas se debe alterar su estructura cuaternaria (Koziol, 1992; Watanabe *et al.*, 2003). Probablemente la síntesis de este grupo de proteínas es constitutiva para la quínoa, lo explicaría por qué no varió el contenido de estas frente a estrés hídrico.

Sin embargo, en otras especies, como trigo, se ha observado que el estrés por sequía durante la etapa de floración y desarrollo del grano altera fracciones de proteínas distintas a albuminas y globulinas (Hajheidari *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2013). Lo que podría sugerir que la conformación de otras proteínas solubles en semillas de *Ch. quinoa* no responde al estrés hídrico.

El contenido de albuminas, globulinas y de otras proteínas solubles mostró variaciones entre los genotipos que no responden a algún patrón repetible entre las temporadas

(Tab.3). A pesar de que se ha observado que los genotipos de quínoa presentan alta variabilidad genética entre ellos e inclusive dentro de las mismas poblaciones (Bazile *et al.*, 2014; Zurita-Silva *et al.*, 2014), esta respuesta podría indicar que la abundancia relativa de las fracciones de proteínas de reserva en semillas es conservada entre los genotipos analizados.

Periodos de sequía como una estrategia agronómica: incremento de proteínas totales en semillas versus rendimiento de semillas

Frente a un escenario de cambio climático a nivel regional y mundial es relevante buscar alternativas que permitan diversificar los sistemas agrícolas, de manera que sea posible la producción de alimentos a pesar de las condiciones climáticas desafiantes (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016; Iizumi *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos en este estudio han permitido sentar las bases para idear una estrategia de cultivo, probada en ensayos de campo, que potencialmente permitiría incrementar el contenido de proteínas en las semillas de quínoa al ser cultivadas con 40 a 70% de agua disponible. Los resultados obtenidos concuerdan con estudios en que se ha observado incrementos en las fracciones de proteínas, aminoácidos y polipéptidos libres en semillas de quínoa cultivadas en condiciones de déficit hídrico (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016; Fischer *et al.*, 2017).

En el ensayo de invernadero no hubo diferencias ($P > 0,05$) en la producción de semillas por planta, y a pesar que T40 presentó una producción media mayor, esta no fue estadísticamente significativa (Fig.5e). Sin embargo, T70 presentó mayores contenidos de proteínas que T0, T20 y T40 (Tab.2). Esto podría dar indicios de cambios en la redistribución de recursos como el nitrógeno y carbono, sin producir mayores efectos sobre el rendimiento (Bascuñán-Godoy *et al.*, 2016). Sin embargo, es necesario profundizar la investigación para diferenciar el efecto del estrés hídrico del estrés por alta temperatura que pudo haber afectado al ensayo de invernadero.

A pesar de no presentar diferencias estadísticamente significativas en el contenido de proteínas totales entre T40, T70 y T100 (para 2014/2015 y 2015/2016), la disminución en el rendimiento de semillas puede producir un perjuicio económico a los agricultores. Por otro lado, en condiciones de cultivo limitantes, en donde la disponibilidad hídrica

es baja (regiones áridas y semiáridas) la posibilidad de seguir produciendo semillas, con características nutricionales semejantes, a pesar de tener menores rendimientos productivos, representa una alternativa de cultivo que contribuya a la seguridad alimentaria regional y mundial. Sin embargo, al observar que en ciertas condiciones, debido al estrés hídrico, disminuyó el rendimiento de semillas (temporada 2014/2015) y en la temporada 2015/2016 no hubo diferencias entre T40, T70 y T100 es necesario analizar la estabilidad de esta respuesta en un ensayo de varias temporadas y en distintos ambientes. También, los resultados obtenidos en el invernadero permiten individualizar el efecto del estrés hídrico de otros factores ambientales, tales como radiación y temperatura (que a pesar de ser alta, fue homogénea para todos los tratamientos hídricos), por lo que no hubo diferencias en la producción de semillas entre los tratamientos (Fig.5e). Es probable que la quínoa pueda tolerar el estrés hídrico sin efectos significativos sobre la producción de semillas.

Se ha señalado que las fracciones de albuminas y globulinas de la quínoa presentan una composición de aminoácidos de gran importancia nutricional. Por tanto, el determinar una estrategia de riego que optimice la producción de estas fracciones proteicas podría repercutir, mejorando las características nutricionales de las semillas y productos derivados de quínoa, de manera que estos actúen como alimentos funcionales. Con riego deficitario se logró mantener concentraciones de albuminas y globulinas, que en términos nutricionales podrían ser atractivos.

CONCLUSIONES

La variación en el contenido hídrico en la planta (PHF) podría estar relacionada a la alta temperatura y alta radiación fotosintéticamente activa durante el periodo de aplicación de estrés hídrico en los ensayos al aire libre.

El rendimiento de semillas en los ensayos al aire libre fue afectado por el estrés hídrico severo, dependiendo de la temporada, sin que la reposición parcial o total del agua disponible generara una respuesta que se repitiera entre los ensayos. Tampoco el contenido de proteínas varió en proporción a la reposición de agua.

En el ensayo al aire libre se observó que la acumulación de albuminas y globulinas varió entre ambas temporadas, siendo más alta en la temporada 2015/2016 para T70

y T100. Sin embargo, el contenido de proteínas totales fue menor que el reportado para 2014/2015 e invernadero.

La disminución del contenido de albuminas en el ensayo de invernadero podría ser consecuencia de la alta temperatura al interior de este.

Es posible cultivar quínoa en condiciones de riego deficitario sin disminuir significativamente la producción de semillas y acumulación de proteínas en ellas, aunque no se observó un incremento en la acumulación de proteínas en semilla.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, E., Fereres, E., Hsiao, T.C., Henderson, D.W., 1979. Diurnal growth trends, water potential, and osmotic adjustment of maize and sorghum leaves in the field. *Plant Physiol.* 64, 476–80. doi:10.1104/pp.64.3.476
- Aguilar, P.C., Jacobsen, S.E., 2003. Cultivation of quinoa on the Peruvian altiplano. *Food Rev. Int.* 19, 31–41. doi:10.1081/FRI-120018866
- Alvarado, P., Urrutia, G., 2003. *Invernaderos*. Editorial del Cardo, Santiago, Chile.
- Andrade, F.H., Calviño, P., Cirilo, A., Barbieri, P., 2002. Yield responses to narrow rows depend on increased radiation interception. *Agron. J.* 94, 975–980. doi:10.2134/agronj2002.9750
- AOAC International, 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International.
- Arumingtyas, E.L., Savitri, E.S., Purwoningrahayu, R.D., 2013. Protein profiles and dehydrin accumulation in some soybean varieties (*Glycine max* L. Merr.) in drought stress conditions. *Am. J. Plant Sci.* 4, 134–141. doi:10.4236/ajps.2013.41018
- Bascuñán-Godoy, L., Reguera, M., Abdel-Tawab, Y.M., Blumwald, E., 2016. Water deficit stress-induced changes in carbon and nitrogen partitioning in *Chenopodium quinoa* WILLD. *Planta* 243, 591–603. doi:10.1007/s00425-015-2424-z
- Bazile, D., Martínez, E.A., Fuentes, F., 2014. Diversity of quinoa in a biogeographical island: a review of constraints and potential from arid to temperate regions of Chile. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 42, 289–298. doi:10.1583/nbha4229733
- Bendevis, M., Sun, Y., Shabala, S., Rosenqvist, E., Liu, F., Jacobsen, S.-E., 2014. Differentiation of photoperiod-induced ABA and soluble sugar responses of two quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) cultivars. *J. Plant Growth Regul.* 33, 562–570. doi:10.1007/s00344-013-9406-9
- Berti, M.T., Serri, H., Wilckens, R., Urbina, A., Figueroa, I., 1997. Determination of physiological maturity and optimal harvest date in quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.). *Agro-Ciencia (Chile)* 13, 135–141.

- Bhargava, A., Shukla, S., Ohri, D., 2006. *Chenopodium quinoa*—an Indian perspective. *Ind. Crops Prod.* 23, 73–87. doi:10.1016/j.indcrop.2005.04.002
- Bittelli, M., Campbell, G.S., Tomei, F., 2015. *Soil physics with Python*. OUP Oxford.
- Blum, A., 2011. Plant water relations, plant stress and plant production, in: *Plant Breeding for Water-Limited Environments*. Springer New York, New York, NY, pp. 11–52. doi:10.1007/978-1-4419-7491-4_2
- Blum, A., 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Aust. J. Agric. Res.* 56, 1159–1168. doi:10.1071/AR05069
- Bosque Sanchez, H., Lemeur, R., Van Damme, P., Jacobsen, S.-E., 2003. Ecophysiological analysis of drought and salinity stress of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.). *Food Rev. Int.* 19, 8755–9129. doi:10.1081/FRI-120018874
- Bouman, B.A.M., Tuong, T.P., 2001. Field water management to save water and increase its productivity in irrigated lowland rice. *Agric. Water Manag.* 49, 11–30. doi:10.1016/S0378-3774(00)00128-1
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Brinegar, C., Goundan, S., 1993. Isolation and characterization of Chenopodin, the 11S seed storage protein of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *J. Agric. Food Chem.* 41, 182–185. doi:10.1021/jf00026a006
- Brinegar, C., Sine, B., Nwokocha, L., 1996. High-cysteine 2S seed storage proteins from quinoa (*Chenopodium quinoa*). doi:10.1021/JF950830+
- Candiano, G., Bruschi, M., Musante, L., Santucci, L., Ghiggeri, G.M., Carnemolla, B., Orecchia, P., Zardi, L., Righetti, P.G., 2004. Blue silver: a very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. *Electrophoresis* 25, 1327–1333. doi:10.1002/elps.200305844
- Carjuzaa, P., Castellión, M., Distéfano, A.J., del Vas, M., Maldonado, S., 2008. Detection and subcellular localization of dehydrin-like proteins in quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) embryos. *Protoplasma* 233, 149–156. doi:10.1007/s00709-008-0300-4
- Castrillo, M., Fernandez, D., Calcagno, A.M., Trujillo, I., Guenni, L., 2001. Responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, protein content, and stomatal conductance to water deficit in maize, tomato, and bean. *Photosynthetica* 39, 221–226. doi:10.1023/A:1013731210309
- Delatorre-Herrera, J., 2003. Current use of quinoa in Chile. *Food Rev. Int.* 19, 155–165. doi:10.1081/FRI-120018882
- Deng, N., Ling, X., Sun, Y., Zhang, C., Fahad, S., Peng, S., Cui, K., Nie, L., Huang, J., 2015. Influence of temperature and solar radiation on grain yield and quality in irrigated rice system. *Eur. J. Agron.* 64, 37–46. doi:10.1016/j.eja.2014.12.008

- Dias, M.C., Brüggemann, W., 2010. Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. *Photosynthetica* 48, 96–102. doi:10.1007/s11099-010-0013-8
- Drzewiecki, J., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Pawelzik, E., Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Jung, S.T., Trakhtenberg, S., Gorinstein, S., 2003. Identification and differences of total proteins and their soluble fractions in some pseudocereals based on electrophoretic patterns. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7798–7804. doi:10.1021/jf030322x
- Ehrler, W.L., Idso, S.B., Jackson, R.D., Reginato, R.J., 1978. Diurnal changes in plant water potential and canopy temperature of wheat as affected by drought. *Agron. J.* 70, 999–1004. doi:10.2134/agronj1978.00021962007000060027x
- Eyshi Rezaei, E., Webber, H., Gaiser, T., Naab, J., Ewert, F., 2015. Heat stress in cereals: mechanisms and modelling. *Eur. J. Agron.* doi:10.1016/j.eja.2014.10.003
- Fabián, A., Jäger, K., Rakszegi, M., Barnabás, B., 2011. Embryo and endosperm development in wheat (*Triticum aestivum* L.) kernels subjected to drought stress. *Plant Cell Rep.* 30, 551–563. doi:10.1007/s00299-010-0966-x
- Fairbanks, D.J., Burgener, K.W., Robison, L.R., Andersen, W.R., Ballon, E., 1990. Electrophoretic characterization of quinoa seed proteins. *Plant Breed.* 104, 190–195. doi:10.1111/j.1439-0523.1990.tb00422.x
- Farooq, M., Bramley, H., Palta, J.A., Siddique, K.H.M., 2011. Heat stress in wheat during reproductive and grain-filling phases. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* doi:10.1080/07352689.2011.615687
- Fischer, S., Wilckens, R., Jara, J., Aranda, M., 2013. Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) subjected to drought stress. *Ind. Crops Prod.* 46, 341–349. doi:10.1016/j.indcrop.2013.01.037
- Fischer, S., Wilckens, R., Jara, J., Aranda, M., Valdivia, W., Bustamante, L., Graf, F., Obal, I., 2017. Protein and antioxidant composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) sprout from seeds submitted to water stress, salinity and light conditions. *Ind. Crops Prod.* 107, 558–564. doi:10.1016/j.indcrop.2017.04.035
- Föste, M., Elgeti, D., Brunner, A.-K., Jekle, M., Becker, T., 2015. Isolation of quinoa protein by milling fractionation and solvent extraction. *Food Bioprod. Process.* 96, 20–26. doi:10.1016/j.fbp.2015.06.003
- Fujihara, S., Sasaki, H., Aoyagi, Y., Sugahara, T., 2008. Nitrogen-to-protein conversion factors for some cereal products in Japan. *J. Food Sci.* 73, C204–C209.
- Gambín, B.L., Borrás, L., 2010. Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. *Ann. Appl. Biol.* 156, 91–102. doi:10.1111/j.1744-7348.2009.00367.x
- Geerts, S., Raes, D., Garcia, M., Condori, O., Mamani, J., Miranda, R., Cusicanqui, J., Taboada, C., Yucra, E., Vacher, J., 2008. Could deficit irrigation be a sustainable practice for quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) in the Southern Bolivian

- Altiplano? *Agric. Water Manag.* 95, 909–917. doi:10.1016/j.agwat.2008.02.012
- González, J.A., Bruno, M., Valoy, M., Prado, F.E., 2011. Genotypic variation of gas exchange parameters and leaf stable carbon and nitrogen isotopes in ten quinoa cultivars grown under drought. *J. Agron. Crop Sci.* 197, 81–93. doi:10.1111/j.1439-037X.2010.00446.x
- Hajheidari, M., Eivazi, A., Buchanan, B.B., Wong, J.H., Majidi, I., Salekdeh, G.H., 2007. Proteomics uncovers a role for redox in drought tolerance in wheat. *J. Proteome Res.* 6, 1451–1460. doi:10.1021/pr060570j
- Hand, S.C., Menze, M.A., Toner, M., Boswell, L., Moore, D., 2011. LEA proteins during water stress: not just for plants anymore. *Annu. Rev. Physiol.* 73, 115–134. doi:10.1146/annurev-physiol-012110-142203
- He, J.F., Goyal, R., Laroche, A., Zhao, M.L., Lu, Z.X., 2012. Water stress during grain development affects starch synthesis, composition and physicochemical properties in triticale. *J. Cereal Sci.* 56, 552–560. doi:10.1016/j.jcs.2012.07.011
- Iizumi, T., Yokozawa, M., Sakurai, G., Travasso, M.I., Romanenkov, V., Oettli, P., Newby, T., Ishigooka, Y., Furuya, J., 2014. Historical changes in global yields: major cereal and legume crops from 1982 to 2006. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 23, 346–357. doi:10.1111/geb.12120
- Jacobsen, S.E., 2003. The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.). *Food Rev. Int.* 19, 167–177. doi:10.1081/FRI-120018883
- Jacobsen, S.E., Mujica, A., Jensen, C.R., 2003. The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) to adverse abiotic factors. *Food Rev. Int.* 19, 99–109. doi:10.1081/FRI-120018872
- Jarvis, P.G., 1976. The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 273, 593–610. doi:10.1098/rstb.1976.0035
- Jensen, C.R., Jacobsen, S.E., Andersen, M.N., Núñez, N., Andersen, S.D., Rasmussen, L., Mogensen, V.O., 2000. Leaf gas exchange water relation characteristics of field quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) during soil drying. *Eur. J. Agron.* 13, 11–25. doi:10.1016/S1161-0301(00)00055-1
- Jeong, J.S., Kim, Y.S., Baek, K.H., Jung, H., Ha, S.H., Do Choi, Y., Kim, M., Reuzeau, C., Kim, J.K., 2010. Root-specific expression of OsNAC10 improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. *Plant Physiol.* 153, 185–197. doi:10.1104/pp.110.154773
- Kagaya, Y., Toyoshima, R., Okuda, R., Usui, H., Yamamoto, A., Hattori, T., 2005. LEAFY COTYLEDON1 controls seed storage protein genes through its regulation of FUSCA3 and ABSCISIC ACID INSENSITIVE3. *Plant Cell Physiol.* 46, 399–406. doi:10.1093/pcp/pci048
- Keyantash, J., Dracup, J.A., 2002. The quantification of drought: An evaluation of drought indices. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 83, 1167–1180. doi:10.1175/1520-

0477(2002)083<1191:TQODAE>2.3.CO;2

- Kishor, P.B.K., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N., 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.* 88, 424–438. doi:<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.471.372&rep=rep1&type=pdf>.
- Kjeldahl, J., 1883. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Zeitschrift für Anal. Chemie* 22, 366–382. doi:10.1007/BF01338151
- Koziol, M.J., 1992. Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.). *J. Food Compos. Anal.* 5, 35–68. doi:10.1016/0889-1575(92)90006-6
- Laino, P., Shelton, D., Finnie, C., De Leonardis, A.M., Mastrangelo, A.M., Svensson, B., Lafiandra, D., Masci, S., 2010. Comparative proteome analysis of metabolic proteins from seeds of durum wheat (cv. Svevo) subjected to heat stress. *Proteomics* 10, 2359–2368. doi:10.1002/pmic.200900803
- Lamacchia, C., Chillo, S., Lamparelli, S., Suriano, N., La Notte, E., Del Nobile, M.A., 2010. Amaranth, quinoa and oat doughs: mechanical and rheological behaviour, polymeric protein size distribution and extractability. *J. Food Eng.* 96, 97–106. doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.07.001
- Li, M., Yang, D., Li, W., 2007. Leaf gas exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of three wetland plants in response to long-term soil flooding. *Photosynthetica* 45, 222–228. doi:10.1007/s11099-007-0036-y
- Li, P., Chen, J., Wu, P., 2011. Agronomic characteristics and grain yield of 30 spring wheat genotypes under drought stress and nonstress conditions. *Agron. J.* 103, 1619–1628. doi:10.2134/agronj2011.0013
- Li, Y., Wu, Y., Hernandez-Espinosa, N., Peña, R.J., 2013. The influence of drought and heat stress on the expression of end-use quality parameters of common wheat. *J. Cereal Sci.* 57, 73–78. doi:10.1016/j.jcs.2012.09.014
- Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659–668. doi:10.1093/jexbot/51.345.659
- McDowell, N.G., 2011. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant Physiol.* 155, 1051–1059. doi:10.1104/pp.110.170704
- Navarro-Lisboa, R., Herrera, C., Zúñiga, R.N., Enrione, J., Guzmán, F., Matiacevich, S., Astudillo-Castro, C., 2017. Quinoa proteins (*Chenopodium quinoa* WILLD.) fractionated by ultrafiltration using ceramic membranes: the role of pH on physicochemical and conformational properties. *Food Bioprod. Process.* 102, 20–30. doi:10.1016/j.fbp.2016.11.005
- Nguyen, T.-P., Cueff, G., Hegedus, D.D., Rajjou, L., Bentsink, L., 2015. A role for seed

- storage proteins in *Arabidopsis* seed longevity. *J. Exp. Bot.* 66, 6399–6413. doi:10.1093/jxb/erv348
- Nongonierma, A.B., Le Maux, S., Dubrulle, C., Barre, C., FitzGerald, R.J., 2015. Quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) protein hydrolysates with in vitro dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory and antioxidant properties. *J. Cereal Sci.* 65, 112–118. doi:10.1016/j.jcs.2015.07.004
- Parchin, R.A., Shaban, M., 2014. Protein profile and seeds storage proteins changes in wheat genotypes under control and drought stress conditions. *Sci. Agric.* 1, 2004–2006. doi:10.15192/PSCP.SA.2014.1.1.68
- Pezeshki, S.R., 2001. Wetland plant responses to soil flooding. *Environ. Exp. Bot.* 46, 299–312. doi:10.1016/S0098-8472(01)00107-1
- Razzaghi, F., Ahmadi, S.H., Adolf, V.I., Jensen, C.R., Jacobsen, S.E., Andersen, M.N., 2011. Water relations and transpiration of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) under salinity and soil drying. *J. Agron. Crop Sci.* 197, 348–360. doi:10.1111/j.1439-037X.2011.00473.x
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161, 1189–1202. doi:10.1016/j.jplph.2004.01.013
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., Jacobsen, S.-E., 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Rev. Int.* 19, 179–189. doi:10.1081/FRI-120018884
- Sasidharan, R., Voesenek, L.A.C.J., 2015. Ethylene-mediated acclimations to flooding stress. *Plant Physiol.* 169, 3–12. doi:10.1104/pp.15.00387
- Simonian, M.H., Smith, J.A., 2001. Spectrophotometric and colorimetric determination of protein concentration, in: *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc. doi:10.1002/0471142727.mb1001as76
- Stegemann, H., Pietsch, G., 1983. Methods for characterization of the seed proteins in cereals and legumes, in: *Seed Proteins*. Springer, pp. 45–75.
- Sun, Y., Liu, F., Bendevis, M., Shabala, S., Jacobsen, S.E., 2014. Sensitivity of two quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) varieties to progressive drought stress. *J. Agron. Crop Sci.* 200, 12–23. doi:10.1111/jac.12042
- Tollenaar, M., Lee, E.A., 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize, in: *Field Crops Research*. Elsevier, pp. 161–169. doi:10.1016/S0378-4290(02)00024-2
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., Martínez, E.A., 2010. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.), an ancient Andean grain: a review. *J. Sci. Food Agric.* 90, 2541–2547. doi:10.1002/jsfa.4158
- Walsh, B.M., Adhikary, D., Maughan, P.J., Emshwiller, E., Jellen, E.N., 2015. *Chenopodium* polyploidy inferences from Salt Overly Sensitive 1 (SOS1) data. *Am.*

- J. Bot. 102, 533–43. doi:10.3732/ajb.1400344
- Wang, D., Heckathorn, S.A., Barua, D., Joshi, P., Hamilton, E.W., Lacroix, J.J., 2008. Effects of elevated CO₂ on the tolerance of photosynthesis to acute heat stress in C₃, C₄, and CAM species. *Am. J. Bot.* 95, 165–76. doi:10.3732/ajb.95.2.165
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1–14. doi:10.1007/s00425-003-1105-5
- Wang, Y., Xu, H., Zhu, H., Tao, Y., Zhang, G., Zhang, L., Zhang, C., Zhang, Z., Ma, Z., 2014. Classification and expression diversification of wheat dehydrin genes. *Plant Sci.* 214, 113–120. doi:10.1016/j.plantsci.2013.10.005
- Watanabe, K., Ibuki, A., Chen, Y.-C., Kawamura, Y., Mitsunaga, T., 2003. Composition of quinoa protein fractions. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 50, 546–549. doi:10.3136/nskkk.50.546
- Wilckens, R., Hevia, F., Tapia, M., Albarrán, R., 1996. Caracterización de dos genotipos de quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) chilena. I. electroforesis de proteínas de semilla. *Agrociencia* 12, 51–56.
- Winkel, T., Méthy, M., Thénot, F., 2002. Radiation use efficiency, chlorophyll II fluorescence, and reflectance indices associated with ontogenic changes in water-limited *Chenopodium quinoa* leaves. *Photosynthetica* 40, 227–232. doi:10.1023/A:1021345724248
- Wright, K.H., Pike, O.A., Fairbanks, D.J., Huber, C.S., 2002. Composition of *Atriplex hortensis*, sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *J. Food Sci.* 67, 1383–1385. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb10294.x
- Xiao, B., Huang, Y., Tang, N., Xiong, L., 2007. Over-expression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field conditions. *Theor. Appl. Genet.* 115, 35–46. doi:10.1007/s00122-007-0538-9
- Yawadio Nsimba, R., Kikuzaki, H., Konishi, Y., 2008. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. seeds. *Food Chem.* 106, 760–766. doi:10.1016/j.foodchem.2007.06.004
- Yi, B., Zhou, Y.F., Gao, M.Y., Zhang, Z., Han, Y., Yang, G.D., Xu, W., Huang, R.D., 2014. Effect of drought stress during flowering stage on starch accumulation and starch synthesis enzymes in sorghum grains. *J. Integr. Agric.* 13, 2399–2406. doi:10.1016/S2095-3119(13)60694-2
- Yordanova, R.Y., Uzunova, A.N., Popova, L.P., 2005. Effects of short-term soil flooding on stomata behaviour and leaf gas exchange in barley plants. *Biol. Plant.* 49, 317–319. doi:10.1007/s10535-005-7319-6
- You, J., Zong, W., Hu, H., Li, X., Xiao, J., Xiong, L., 2014. A STRESS-RESPONSIVE NAC1-regulated protein phosphatase gene rice protein phosphatase 18 modulates drought and oxidative stress tolerance through abscisic acid-independent reactive oxygen species scavenging in rice. *Plant Physiol.* 166, 2100–2114.

doi:10.1104/pp.114.251116

Zurita-Silva, A., Fuentes, F., Zamora, P., Jacobsen, S.E., Schwember, A.R., 2014. Breeding quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.): potential and perspectives. *Mol. Breed.* 34, 13–30. doi:10.1007/s11032-014-0023-5

Zurita-Silva, A., Jacobsen, S.-E., Razzaghi, F., Alvarez-Flores, R., Ruiz, K.B., Morales, A., Silva, H., 2013. Quinoa drought responses and adaptation, in: *State of the art report on quinoa: around the world in 2013*. pp. 157–171.

