



Universidad de Concepción

Facultad de Farmacia

**EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA Y ESTRATEGIAS DE
ADAPTACIÓN AL ESTRÉS HÍDRICO EN LAS ESPECIES
CHENOPODIUM QUINOA WILLD. Y *AMARANTHUS* SPP.**

POR VALENTINA JAVIERA CABRERA ARAVENA

Tesis presentada a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción
para optar al título profesional de Bioquímico

Profesor guía

Dr. Enrique Ostria Gallardo
Laboratorio de Fisiología Vegetal
Centro de Estudios Avanzados en
Zonas Áridas - CEAZA

Profesora patrocinante

Dra. Luisa Bascuñán Godoy
Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y
Oceanográficas
Universidad de Concepción

Marzo, 2022

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	vi
RESUMEN.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Agua y CO₂ como elementos claves del cambio climático que afectan el desempeño de las plantas	1
1.2. Eficiencia en el uso del agua	5
1.3. Modelos C3 y C4 para estudiar la EUA	5
HIPÓTESIS	7
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
1. REVISIÓN DE LITERATURA CIENTÍFICA.....	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
1. ESTRÉS HÍDRICO Y EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA	10
1.1. Respuestas y estrategias de la planta frente al estrés hídrico 10	
1.2. Eficiencia en el uso del agua: un parámetro clave en el rendimiento fotosintético bajo estrés hídrico	17
2. FOTOSÍNTESIS EN LAS ESPECIES C3 Y C4.....	23
3. EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA EN ESPECIES C3 Y C4	34

3.1. Formación de especies reactivas del oxígeno (ROS)	35
4. TOLERANCIA AL ESTRÉS HÍDRICO EN <i>CHENOPODIUM QUINOA</i> C3 Y <i>AMARANTHUS</i> SPP C4.....	38
5. ESTRATEGIAS DE TOLERANCIA AL ESTRÉS HÍDRICO EN <i>CHENOPODIUM QUINOA</i> WILLD Y <i>AMARANTHUS</i> SPP	45
5.1. Moléculas osmoprotectoras y antioxidantes	49
5.2. PSII en <i>Chenopodium quinoa</i> y <i>Amaranthus</i> spp	51
5.3. Factores de transcripción y expresión de genes relacionados al estrés por sequía	52
6. MEJORAS EN LA EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA.....	55
CONCLUSIONES Y PROYECCIONES	60
REFERENCIAS	64

ÍNDICE DE TABLAS

1-1 Recopilación de métodos utilizados para determinar la eficiencia en el uso del agua, desde escala individual a ecosistema	21
3-2 Comparación nutricional entre los pseudocereales: <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (quinoa) y <i>Amaranthus cruentus</i> L. (amaranto), y los cereales: <i>Oryza sativa</i> L. (arroz) y <i>Zea mays</i> (maíz).....	43

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

1-1	Clasificación de los países con mayor estrés hídrico en el mundo para el 2040.....	3
1-2	ABA induce el cierre estomático.....	13
1-3	Representación de la señalización producida por ABA en la membrana plasmática de las células guarda del estoma.....	14
1-4	Modelo que describe cómo funciona la red de canales iónicos en la mediación del cierre estomático inducido por ABA.....	15
2-5	Cierre estomático desencadenado por ABA independiente de Ca^{2+}	16
2-6	Organización de membrana del proceso de fotosíntesis.....	25
2-7	Fotosíntesis y asimilación de CO_2 en plantas tipo C3 y C4.....	27
2-8	Fotorrespiración en plantas C3.....	30
2-9	Comparación de la anatomía de las hojas en plantas tipo C3 y C4.....	33
3-10	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd (quinoa o quinua), ecotipo Socaire, crecidas en vivero.....	40
3-11	Comparación de semillas de amaranto y quinoa.....	42
3-12	<i>Amaranthus cruentus</i> (amaranto), crecidas en vivero.....	42

RESUMEN

La sequía es una grave amenaza para la agricultura mundial que resulta en grandes pérdidas anuales de rendimiento en los cultivos. Por ende, definir estrategias para la gestión de los recursos hídricos disponibles es una prioridad. El estudio y mejora de la eficiencia en el uso del agua (EUA) en plantas, definida principalmente como la cantidad de carbono absorbido por unidad de agua utilizada, puede solventar estas pérdidas, ya que permite aumentar el rendimiento mientras se ahorra la mayor cantidad de agua del suelo. Así como también se pueden obtener mejoras con el estudio de estrategias bioquímicas que están relacionadas a la tolerancia de los cultivos frente a la sequía.

En los últimos años, el cambio climático se ha visto impulsado principalmente por las actividades humanas, generando, por un lado, un aumento de la escasez hídrica, y por el otro un aumento del CO₂ atmosférico. La escasez hídrica generará un impacto negativo en el rendimiento de los cultivos, mientras que el aumento del CO₂ tendría un impacto positivo en la planta. Sin embargo, este efecto dependerá del metabolismo fotosintético de la planta, es decir, si posee un metabolismo de tipo C₃ o C₄. Por ende, se espera que su EUA será distinta bajo estas condiciones.

Chenopodium quinoa Willd y *Amaranthus* spp son especies tolerantes a diferentes condiciones de estrés abiótico, incluyendo salinidad del suelo, temperaturas extremas, baja disponibilidad de nutrientes y estrés hídrico. Ambas especies son capaces de crecer en suelos marginales y son eficientes en el uso del agua. Sin embargo, estas especies poseen un diferencial metabolismo fotosintético. *Chenopodium quinoa* es una planta C₃, esto quiere decir que la primera etapa de fijación del CO₂ al ciclo de Calvin-Benson-Bassham comienza con la formación de un compuesto de tres carbonos, catalizado por la enzima RuBisCo, siendo este mecanismo el que poseen la mayoría de las plantas. Mientras que la especie *Amaranthus* es una planta C₄,

lo que indica que en la primera etapa de fijación de CO₂ se produce un compuesto de cuatro carbonos, catalizado por la enzima PEP carboxilasa, y luego, en una segunda etapa se produce la incorporación de este CO₂ al ciclo de Calvin-Benson-Bassham, siendo este un metabolismo fotosintético modificado de la vía C3. Así, el estudio de estas especies representa una oportunidad invaluable y ofrecen un inmenso potencial frente a los desafíos presentes y futuros del cambio climático, como también de la seguridad alimentaria. Por ello, en esta tesis se realizó una revisión bibliográfica de los trabajos publicados en las bases de datos Web Of Science, Pubmed, Wiley Online Library, Science Direct y Google Scholar. Se efectuó una lectura crítica de artículos científicos identificando los aspectos relevantes asociados a la eficiencia en el uso del agua y respuestas al estrés de Quinoa y Amaranto, con el fin de contribuir a la actualización y canalización de la información presente en la literatura, así como a la identificación de vacíos de conocimiento para proponer investigaciones futuras que maximicen nuestra comprensión de las bases fisiológicas, bioquímicas y moleculares de la EUA.

El objetivo principal de esta revisión fue proporcionar información detallada sobre estudios recientes acerca de la eficiencia en el uso del agua y estrategias bioquímicas frente al estrés hídrico en *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus* spp. Y, se planteó la hipótesis de que bajo condiciones de estrés hídrico los mecanismos de resistencia de *Amaranthus* spp están relacionados a la mantención del ciclo del carbono, mientras que en *Chenopodium quinoa* están más relacionados con el incremento de mecanismos para evitar la pérdida de agua.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Agua y CO₂ como elementos claves del cambio climático que afectan el desempeño de las plantas

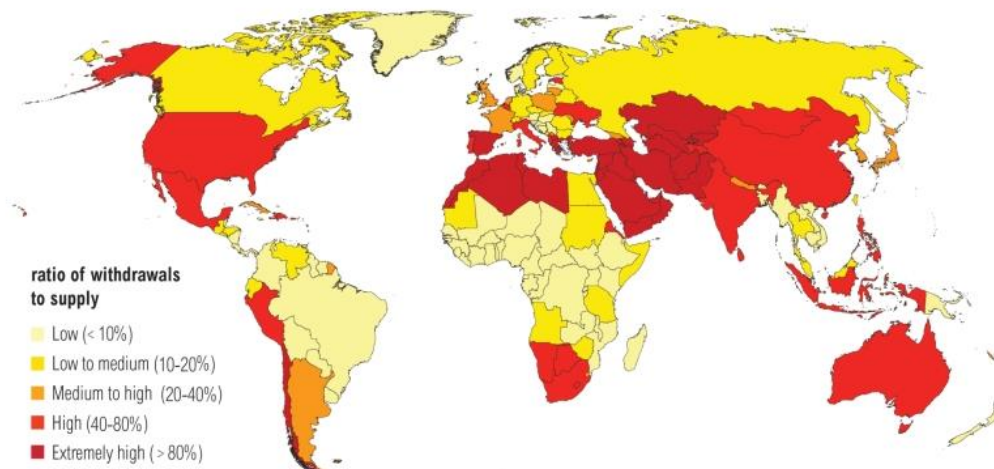
El cambio climático es una consecuencia de diversos factores inducidos por el cambio global, el cual se define como un conjunto de cambios y transformaciones a gran escala producto de actividades antropogénicas como el constante crecimiento demográfico a nivel mundial, la conversión y cambio de uso de la tierra, grandes plantaciones forestales e industrias que liberan gases tóxicos al ambiente y que afectan a nuestro planeta (R. F. Sage, 2020; Sala et al., 2000). Los efectos del cambio climático conducen a una alteración en la biodiversidad y en los recursos hídricos, generando un impacto negativo en el rendimiento de los cultivos y en la seguridad alimentaria (Cohen, Zandalinas, Huck, Fritschi, & Mittler, 2021).

En la actualidad, la escasez de agua dulce se está convirtiendo en un problema cada vez mayor. En primera instancia está afectando significativamente a las regiones áridas y semiáridas del mundo (Cataldo et al., 2021). Paradójicamente, estas regiones tienen como uso principal la ganadería y la siembra de plantas forrajeras, así como también de cereales, leguminosas y árboles frutales, que son trabajados por sistemas agrícolas pequeños y que dependen de la variabilidad de las precipitaciones (FAO, 2019). Durante las próximas décadas es probable que esta escasez de agua dulce aumente de manera exponencial afectando también a otras regiones. De hecho, se prevé que para el año 2040 la escasez de agua y el estrés hídrico serán alto a extremadamente alto en todo el territorio chileno (Figura 1A;1B). De esta forma, Chile sería uno de los 33 países más afectados a nivel mundial y con más probabilidades de enfrentar una disminución en el suministro de agua, esto debido a los cambios en los

patrones de lluvia y a un aumento de las temperaturas en regiones consideradas críticas: como las regiones áridas y semiáridas (Maddocks, Young, & Reig, 2015). Tales regiones corresponden a un 26% de la superficie total nacional y están conformadas por los territorios situados principalmente en las regiones de Coquimbo, Valparaíso y Metropolitana (UNESCO, 2010).

A

Water Stress by Country: 2040



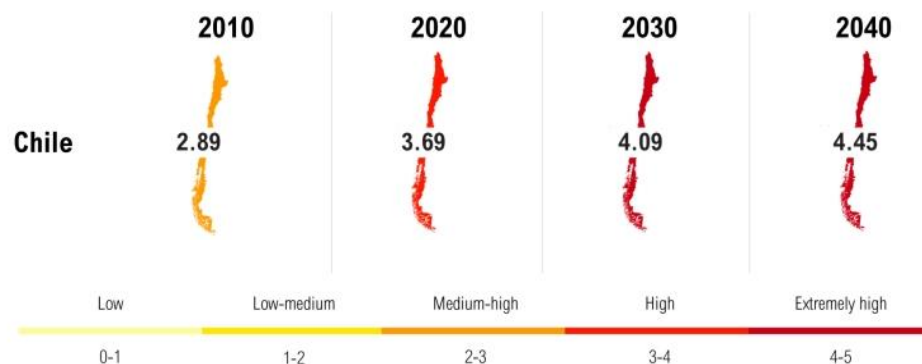
NOTE: Projections are based on a business-as-usual scenario using SSP2 and RCP8.5.

For more: ow.ly/RiWop

 WORLD RESOURCES INSTITUTE

B

Water Stress from 2010 to 2040



NOTE: Baseline water stress measures competition for surface water, calculated as the ratio of local water withdrawals over renewable supply. Projections are based on a business-as-usual scenario using SSP2 and RCP8.5.

Read more: ow.ly/RiWop

 WORLD RESOURCES INSTITUTE

Figura 1. Clasificación de los países con mayor estrés hídrico en el mundo para el 2040. (A) Mapa mundial que indica el porcentaje de estrés hídrico, desde “bajo” a “extremadamente alto”, que se prevé para el año 2040. (B) Imagen que proyecta el aumento prolongado de escasez hídrica en Chile, desde el año 2010 al 2040, donde ya

desde el 2020 se vislumbra una alta escasez de agua en todo el territorio (Recuperado de Maddocks et al., 2015).

Por otra parte también, la intervención humana ha generado un incremento de CO₂ como un gas de efecto invernadero (Sala et al., 2000), el cual es una causa directa de la combustión de combustibles fósiles, industrialización, deforestación y tratamiento de piedra caliza para la producción de cemento y encalada de suelos (Prentice et al., 2001; R. F. Sage, 2020).

Interesantemente el CO₂ es el principal sustrato que utilizan las plantas en la fotosíntesis para producir carbohidratos. Por ello, se ha sugerido que el incremento de CO₂ podría ser beneficioso desde el punto de vista productivo (Leakey et al., 2012), ya que favorecería la fotosíntesis. Además, a niveles elevados de CO₂ los estomas se cierran, lo que reduce la transpiración y mejora el estado hídrico de la planta (Leakey et al., 2012; Morgan et al., 2004). No obstante, a pesar de que se genera una mejora en la eficiencia fotosintética, en episodios de sequía severos sumado a aumentos de temperatura este rendimiento no aumenta, debido a que los efectos del estrés causado por estos sucesos predomina por sobre los beneficios en la fotosíntesis que genera el incremento de CO₂, generando de igual manera efectos perjudiciales en la planta (Gray et al., 2016). Incluso, el CO₂ elevado puede antagonizar las respuestas de la planta al estrés, generando una reducción del enfriamiento por transpiración y por ende acrecentando la susceptibilidad a un daño oxidativo (Obermeier, Lehnert, Ivanov, Luterbacher, & Bendix, 2018; Obermeier et al., 2017).

Por ello tratar de entender como la escasez de agua en los ecosistemas terrestres y, por otro lado, el incremento del CO₂ en la atmósfera afectará en la

fotosíntesis, es una de las principales interrogantes que se plantean en esta revisión.

1.2. Eficiencia en el uso del agua

La eficiencia en el uso del agua (EUA) es un parámetro fisiológico clave para estimar el rendimiento fotosintético (Ma et al., 2021), y está directamente relacionada con la pérdida de agua a través de la transpiración o evaporación del suelo (Lambers et al., 2008), ya que se define principalmente como la cantidad de carbono absorbido por unidad de agua utilizada (Sinclair, Tanner, & Bennett, 1984), combinando procesos como la fotosíntesis y la transpiración (Medlyn et al., 2017).

La EUA se puede determinar a través de diversos análisis, tanto a nivel de hoja, de planta, así como de agro-ecosistema (Medlyn et al., 2017). Su determinación está destinada típicamente a estudios que buscan mejorar el rendimiento de los cultivos mientras se ahorra la mayor cantidad de agua del suelo y se mitigan las consecuencias en la planta causadas por un déficit de agua, permitiendo a su vez llevar a cabo de manera eficiente la fotosíntesis gracias a una mayor captación de CO₂ (Cardoso, Gori, Da-Silva, & Brunetti, 2020).

1.3. Modelos C3 y C4 para estudiar la EUA

Las especies *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa o quinua) y *Amaranthus* spp (amaranto) son eficientes en el uso del agua, y son modelos de estudio frecuente, debido a que contienen un alto valor nutricional, y son bastante tolerantes a diversos tipos de estrés abiótico que afectan a las plantas, es decir, a factores ambientales que son capaces de alterar los procesos fisiológicos y metabólicos de la planta (Méndez-Espinoza & Vallejo Reyna, 2019; Schmidt et al., 2021). Quinoa y Amaranto son herbáceas anuales dicotiledóneas de la

familia *Amaranthaceae*. Sin embargo, tienen un metabolismo fotosintético distinto, ya que quinoa es una planta con metabolismo de tipo C3, es decir que, en un primer paso, la incorporación del CO₂ atmosférico en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham implica la carboxilación del sustrato RuBP por parte de la enzima RuBisCo para formar un compuesto de tres carbonos. Mientras que amaranto es una planta de tipo C4, con un metabolismo fotosintético modificado ya que posee una separación anatómica que permite, por un lado, aislar los procesos de fijación e incorporación del CO₂ en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham, con el fin de evitar procesos que disminuyan la eficiencia fotosintética. Y, por otro lado, aumentar la concentración de CO₂ intracelular. (Cataldo et al., 2021; Jacobsen & Christiansen, 2016; Maldonado-Taipe et al., 2021).

Bajo este argumento, y pensando en la gran importancia que posee el estudio de estas plantas para la seguridad alimentaria mundial en el contexto del cambio climático, se plantearon las siguientes preguntas de investigación: ¿Cuáles serán los mecanismos que subyacen a la eficiencia en el uso del agua en las especies *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus* spp, considerando sus diferencias en la vía fotosintética? Y, ¿cuáles serán las posibles respuestas bioquímicas al estrés por sequía que les confieren tolerancia a estas especies?

HIPÓTESIS

Considerando la mayor capacidad fotosintética dada por la compartimentalización y concentración de CO₂ en *Amaranthus* spp respecto a *Chenopodium quinoa* se espera que:

Bajo condiciones de estrés hídrico los mecanismos de resistencia de *Amaranthus* spp estén relacionados a la mantención de la asimilación del carbono, mientras que en *Chenopodium quinoa* estén más relacionados con el incremento de mecanismos para evitar la pérdida de agua.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar y analizar investigaciones recientes acerca de la eficiencia en el uso del agua y las posibles estrategias bioquímicas que generan tolerancia al estrés hídrico en *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus* spp.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comprender las respuestas y estrategias más comunes de las plantas para hacer frente al estrés hídrico
2. Comprender las diferentes definiciones de la eficiencia en el uso del agua y analizar las metodologías para determinarla.
3. Estudiar las respuestas a estrés hídrico y la eficiencia en el uso del agua en las especies *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus* spp en función de sus estrategias C3 y C4, respectivamente.
4. Proporcionar nuevas preguntas y temas de investigación, con un enfoque bioquímico, respecto al estudio de la eficiencia en el uso del agua en plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. REVISIÓN DE LITERATURA CIENTÍFICA

Para cumplir con los objetivos propuestos, se realizó una revisión bibliográfica a través de una búsqueda en bases de datos en línea de artículos científicos. Entre ellas se incluyen: Web of Science, Pubmed, Wiley Online Library, ScienceDirect y Google Scholar. Se identificaron trabajos publicados principalmente en inglés entre los años 1982 y 2021, centrando la investigación reciente en el tema en trabajos publicados desde el año 2017 en adelante, siendo el primer filtro de búsqueda realizado. Además, se analizaron las referencias bibliográficas de los artículos que fueron incluidos en la revisión, con el fin de rescatar estudios relacionados e incluir información relevante. Estos artículos fueron localizados principalmente a través de Google Scholar.

El segundo filtro de búsqueda se realizó a través de la utilización de palabras clave, por ejemplo, “water use efficiency” o “photosynthetic pathways C3 and C4”, y añadiendo términos relacionados como: “plant drought stress”, “effects”, “mechanisms”, “response”, “tolerance”. Y así con cada tema abordado en la revisión.

El material bibliográfico fue seleccionado mediante la lectura de títulos y resúmenes que contenían información relevante al tema. Mientras que se excluyeron los estudios que no coincidían con los objetivos previamente indicados.

En esta revisión se incluyeron: artículos, revisiones, libros académicos e información nutricional e histórica -en bases de datos en línea- que estaban relacionados con las consecuencias del cambio climático, los factores que exacerbaban estos cambios en la tierra, la determinación de la eficiencia en el uso del agua en las plantas, las consecuencias fisiológicas y bioquímicas de las

plantas frente al estrés hídrico, las respuestas y tolerancia que generan las plantas al estrés, características morfológicas y fisiológicas de las especies *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus* spp, y por último, estrategias de mejora en la eficiencia en el uso del agua y el rol de estas especies en los estudios biotecnológicos y en la seguridad alimentaria mundial.

Finalmente, para la organización de las referencias seleccionadas, se utilizó el programa Endnote X9, el cual permitió ordenar y ajustar de manera más rápida cada artículo, revisión, libro e información relevante dentro del texto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. ESTRÉS HÍDRICO Y EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA

1.1. Respuestas y estrategias de la planta frente al estrés hídrico

La escasez de agua es uno de los factores más importantes que reducen la producción agrícola (Yang et al., 2021), ya que genera diversos cambios y daños en toda la estructura de la planta, pudiendo éstos ser irreversibles. Específicamente, cuando una planta se encuentra por debajo de un nivel crítico en su contenido de agua, es decir, 60-30% de CRA (contenido relativo de agua), ésta alcanza el punto de marchitez permanente (Azcón, 2008). Además, estos cambios aluden a una restricción en la germinación (Hussain et al., 2019) y en el crecimiento de las plantas, reducción del tamaño de las hojas, de la extensión del tallo y de la proliferación de las raíces, entre otros (Farooq et al., 2009).

Se entiende por estrés hídrico cuando el suministro de agua a las raíces es muy limitado y/o cuando la pérdida de agua por transpiración es muy alta (Fahad et al., 2017). En cambio, el estrés por sequía se refiere al efecto que generan cambios ambientales simultáneos en la planta, como cambios en la temperatura, la intensidad de la luz y principalmente la escasez de precipitaciones (Seleiman et al., 2021). Consecuentemente, provocando un mayor impacto a nivel de ecosistema que a nivel individual por sí solo, como se podría interpretar el estrés hídrico como tal.

Los mecanismos para hacer frente al estrés hídrico se pueden dividir en dos categorías principales: evasión y tolerancia. El objetivo de los mecanismos para evitar el estrés es equilibrar la absorción de CO₂, la pérdida de agua y la exposición al estrés (A. Z. Morales, A.; Silva, H, 2011). Mientras que los

mecanismos de tolerancia permiten a la planta resistir el estrés (Bob B. Buchanan, 2015). La pérdida de agua por transpiración se limita al cerrar los estomas, lo que daría como resultado un crecimiento restringido de los brotes y una senescencia acelerada de las hojas (Claeys & Inzé, 2013). En este sentido, uno de los principales mecanismos de evasión, es la floración temprana, que implica un desarrollo rápido de la planta y un acortamiento del ciclo de vida mientras se dispone de agua suficiente. Esta estrategia permite disminuir la pérdida de agua por transpiración y aumentar la absorción de agua desde los sistemas radiculares. Los cambios radiculares, que incluyen el tamaño, la densidad, la longitud, proliferación, expansión y tasa de crecimiento, es una de las primeras estrategias para hacer frente a la sequía, en conjunto con el cierre estomático (Seleiman et al., 2021).

También, en algunos casos, características como la presencia de tricomas y cutículas gruesas, ayudan a mantener altos potenciales hídricos en los tejidos. Estas estructuras permiten disminuir la temperatura de las hojas ayudando a la reducción de la pérdida de agua (Seleiman et al., 2021). Lo interesante, es que estas características se expresan tanto si las plantas están estresadas o no, ya que constituye a una adaptación evolutiva que mejora su tolerancia (Bob B. Buchanan, 2015). Además, los mecanismos de tolerancia al estrés tienen como objetivo proteger contra el daño celular cuando el estrés se vuelve más severo. Estos mecanismos incluyen la desintoxicación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y la acumulación de enzimas protectoras (Claeys & Inzé, 2013).

Por otra parte, existe otro mecanismo que también es capaz de generar resistencia al estrés: la aclimatación, es decir, el ajuste de organismos individuales en respuesta a factores ambientales cambiantes. Aquí la planta altera su homeostasis para aclimatarse a los cambios en su entorno, lo cual le confiere resistencia. Sin embargo, este mecanismo es reversible y no otorga un

cambio evolutivo que se traspase de generación en generación (Bob B. Buchanan, 2015).

Desde un punto de vista bioquímico, tanto las respuestas de evasión como las de tolerancia, están orquestadas principalmente por el ácido abscísico (ABA), el cual es una hormona reguladora central del crecimiento de las plantas durante todo el ciclo de vida, especialmente en condiciones estresantes (Alandia, Jacobsen, Kyvsgaard, Condori, & Liu, 2016).

El aumento del ácido abscísico (ABA) —que se produce en respuesta al déficit hídrico— actúa como una señal para inducir el cierre de los estomas (Figura 2). Este se sintetiza en los plastidios de tejidos vasculares, en hojas con estrés hídrico y/o en las raíces en respuesta a la sequedad del suelo (Bob B. Buchanan, 2015; Pantin et al., 2013; Wilkinson & Davies, 2002).

Este evento está impulsado por factores ambientales como cambios en la humedad, o más específicamente, por una combinación de alta temperatura y baja humedad atmosférica (i.e. déficit de presión de vapor entre la hoja y la atmósfera (VPD)). Consecuentemente se produce una reducción de la turgencia foliar, provocando así el estrés hídrico en la planta (McAdam & Brodribb, 2016). Este aumento en el VPD y cambios en la turgencia foliar activan la biosíntesis de ABA generando esta respuesta estomática (McAdam & Brodribb, 2015).

ABA tiene un efecto doble sobre el cierre estomático: por un lado, una acción bioquímica directa sobre las células guarda y, por otro, una acción hidráulica indirecta a través de la disminución de la permeabilidad al agua en la hoja (Pantin et al., 2013). Sin embargo, la señalización de ABA, la hidráulica al cierre de estomas y la sensibilidad de éstos a los cambios en la VPD varían según la especie (Coupel-Ledru et al., 2017).

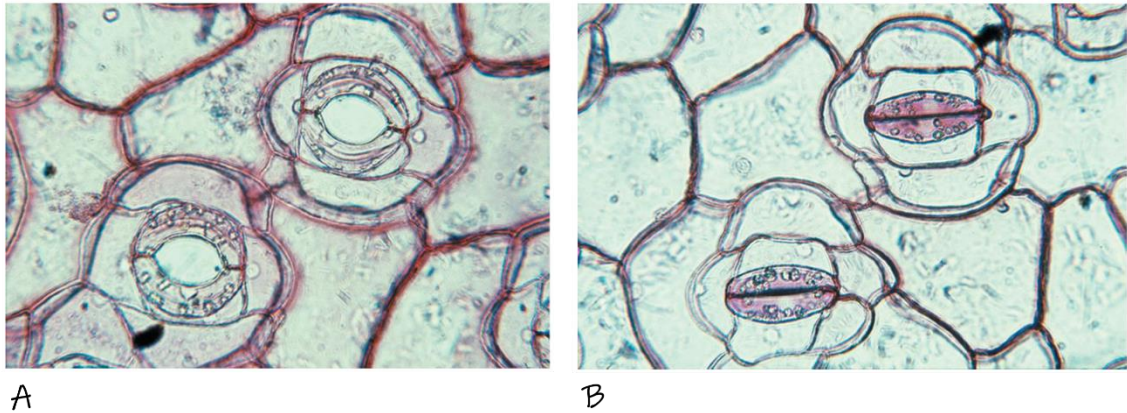


Figura 2. ABA induce el cierre estomático. Tejido epidérmico de *Commelina communis* L. incubado en buffer (pH 6.8) que contenía KCl 50 mM y que luego se suministró con CO₂. (A) Los estomas se abrieron después de dos o tres horas. (B) En la misma solución se le agregó ABA 10 μM y los estomas se cerraron en un plazo entre 10 a 30 minutos (Recuperado de Bob B. Buchanan, 2015)

Pero, ¿cómo el ácido abscísico es capaz de generar el cierre estomático?. Básicamente porque la señalización de ABA en las células guarda del estoma está principalmente mediada por el Ca²⁺. En este contexto, ABA activa los canales de calcio de la membrana plasmática e induce la liberación de estos iones hacia el citosol, lo que genera un aumento de la concentración citosólica de calcio. Este aumento en la concentración, inhibe la H⁺-ATPasa y activa los canales aniónicos de tipo S en las células de guarda (Bob B. Buchanan, 2015; Huang et al., 2019), como SLAC1 o SLAH3 (Geiger et al., 2011; Guzel Deger et al., 2015), los cuales conducen a la despolarización de la membrana. Esto activa los canales de K⁺ de las células guarda liberando potasio, lo que reduce su contenido osmótico, la salida de agua para compensar el desbalance iónico y, finalmente, provoca el cierre de los estomas (Figura 3 y 4). Además, ABA provoca un aumento del pH citosólico, lo que de igual manera promueve la

salida de aniones y de potasio contribuyendo también al cierre de los estomas (Bob B. Buchanan, 2015).

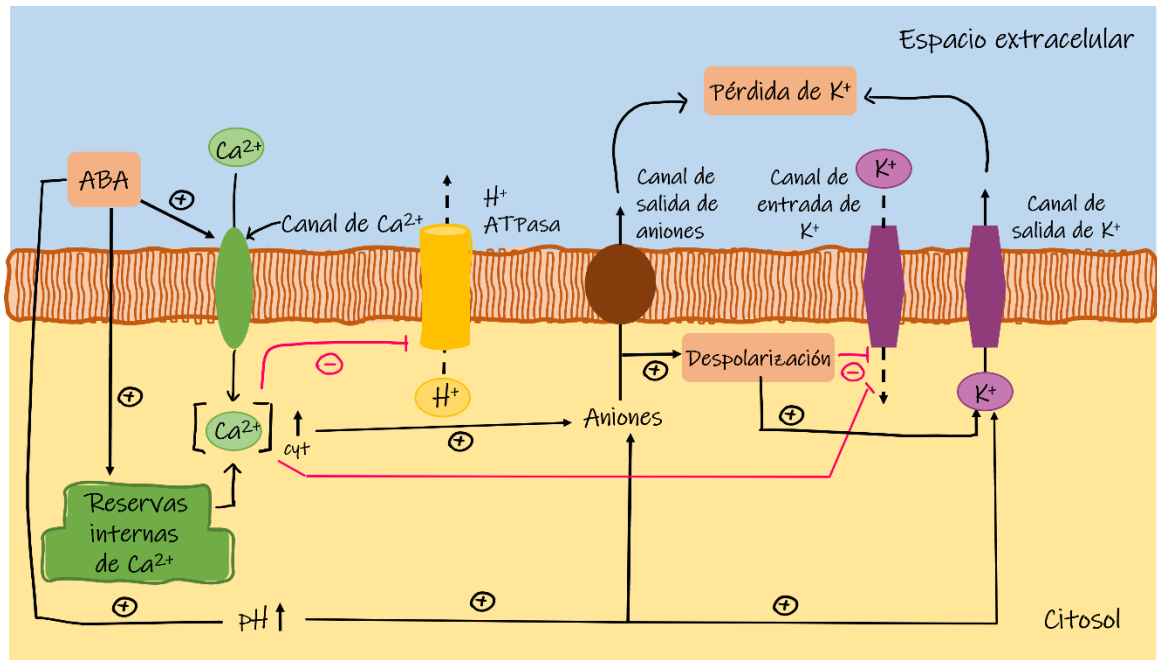


Figura 3. Representación de la señalización producida por ABA en la membrana plasmática de las células guarda del estoma. ABA activa los canales de entrada de Ca^{2+} y, a su vez induce la liberación de Ca^{2+} de los depósitos internos, lo que provoca un aumento de la concentración citosólica de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$). Esto inhibe la H^+ -ATPasa y activa los canales de salida de aniones que conducen a la despolarización de la membrana. La despolarización inhibe los canales de entrada de K^+ y activa los canales de salida de K^+ . Además, éste también es inhibido directamente por el Ca^{2+} . Por otro lado, ABA provoca un aumento en el pH citosólico, lo también que promueve la salida de aniones y los canales de salida de K^+ que finalmente provoca el cierre estomático. (Modificado de Bob B. Buchanan, 2015).

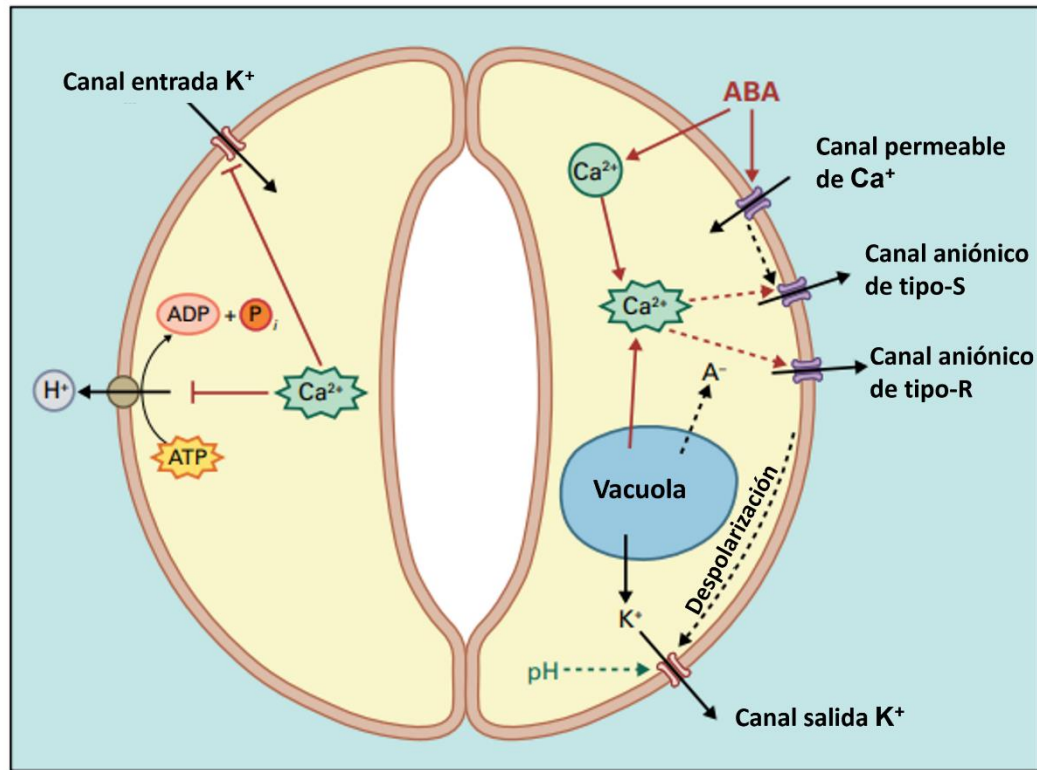


Figura 4. Modelo que describe cómo funciona la red de canales iónicos en la mediación del cierre estomático inducido por ABA. La célula guarda de la derecha muestra los mecanismos que conducen a la salida de solutos que intervienen en el cierre del estoma: canales permeables al Ca^{2+} , los canales aniónicos tipo S y tipo R que son activados por vías dependientes e independientes del Ca^{2+} y los canales de salida del K^+ . La célula guarda de la izquierda representa mecanismos paralelos que funcionan en la apertura del estoma. El Ca^{2+} elevado regula a la baja las bombas de protones de la membrana plasmática y el K^+ en los canales, lo que genera la apertura de los estomas. (Recuperado y modificado de (Schroeder, Kwak, & Allen, 2001).

Sin embargo, el cierre estomático no solo es dependiente de calcio, ya que se ha estudiado que la unión de ABA a sus receptores PYR / PYL / RCAR inhiben la actividad de la PP2C (proteína fosfatasa 2C) (Huang et al., 2019) —una proteína central en la regulación de la transducción de señales del ácido abscísico y que genera la inhibición de la proteína quinasa Open Stomata1

(OST1)—. OST1 es una proteína reguladora positiva de la apertura estomática mediada por el ABA (Acharya, Jeon, Zhang, & Assmann, 2013). Entonces, al inhibir PP2C se activa OST1, la cual fosforila y estimula SLAC1, esto conduce a la liberación de aniones y provoca la despolarización de la membrana plasmática generando una salida de potasio y finalmente el cierre del estoma (Figura 5). Siendo la vía OST1 independiente de Ca^{2+} (Hedrich & Geiger, 2017; Huang et al., 2019).

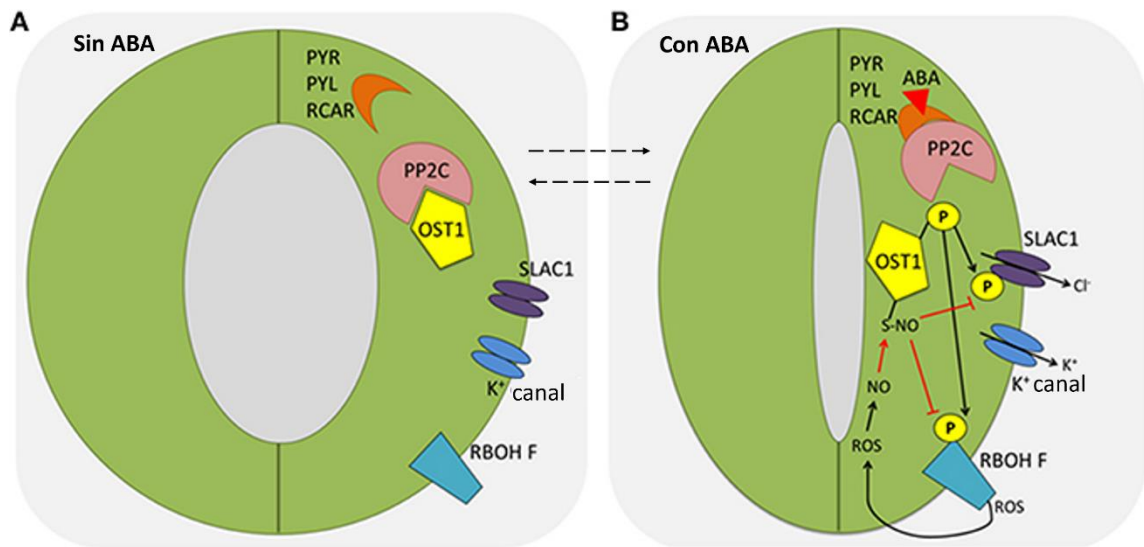


Figura 5. Cierre estomático desencadenado por ABA independiente de Ca^{2+} . **(A)** En ausencia de ABA la PP2C se encuentra activa, por ende, inhibe la actividad quinasa de OST1. **(B)** ABA se une a uno de sus receptores (PYR / PYL / RCAR) que inhiben la PP2C, liberando y activando OST1. El OST1 fosforila el canal aniónico SLAC1 y el sustrato RBOH F, que promueve la liberación de ROS, el cual funciona como un retroalimentador de la señalización de ABA. Se liberan aniones Cl^- a través de SLAC1 lo cual genera una despolarización en la membrana y la posterior salida de K^+ que promueve el cierre del estoma. ABA, ácido abscísico; PP2C, proteína fosfatasa 2C; OST1, Open Stomata 1; PYL, PYR, RCAR, receptores de ABA; SLAC1, canal aniónico de tipo S 1; ROS, especies reactivas del oxígeno; NO, óxido nítrico; RBOH F,

homólogo de la oxidasa de la explosión respiratoria F. (Modificado y recuperado de (Balmant, Zhang, & Chen, 2016).

Luego de una exposición a la sequía las plantas además manifiestan alteraciones como: lesiones celulares, debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), y aumento de la temperatura celular, que provoca consecuencias en las interacciones proteína-proteína, como agregación de proteínas y desnaturalización (Joshi et al., 2016). Además, la sequía genera dificultades en la respiración celular, y el movimiento estomático de las plantas (Yang et al., 2021). Sin embargo, uno de los fenómenos fisiológicos clave afectado por la deficiencia en la disponibilidad hídrica, es la fotosíntesis (Farooq et al., 2009).

1.2. Eficiencia en el uso del agua: un parámetro clave en el rendimiento fotosintético bajo estrés hídrico

Con el fin de conocer y aprovechar de manera efectiva el recurso hídrico y así permitir una mejora en el establecimiento y rendimiento de los cultivos aún en condiciones cambiantes —que pueden ser perjudiciales para la vida vegetal—, se ha estudiado a largo de los años la tolerancia de los cultivos a la sequía a través de la EUA en la planta, ya que una mejora en la eficiencia en el uso del agua podría ser una buena opción para mejorar la seguridad alimentaria y la nutrición mundial (Seleiman et al., 2021; Ullah, Santiago-Arenas, Ferdous, Attia, & Datta, 2019).

La eficiencia en el uso del agua (EUA), como ya se mencionó, se define principalmente como la cantidad de carbono absorbido por unidad de agua utilizada (Sinclair et al., 1984), y combina procesos como la fotosíntesis y la transpiración (Medlyn et al., 2017).

La EUA se puede determinar utilizando distintos métodos que operan a diferentes escalas, que van desde hojas individuales hasta ecosistemas completos (Gimeno et al., 2021; Medlyn et al., 2017), y que establecen el tiempo de determinación, ya que este puede ser instantáneo, diario o estacional, dependiendo del método que se ocupe (Sinclair et al., 1984).

A escala individual, de planta u hoja, la EUA se determina usualmente a partir de mediciones de intercambio de gases (Gimeno et al., 2021), esto corresponde a la relación entre la ganancia de carbono en la fotosíntesis (A) y la pérdida de agua por transpiración (E), esto se denomina “eficiencia instantánea en el uso del agua” (Tabla 1) (Azcón, 2008; Lambers et al., 2008; Medlyn et al., 2017; Sinclair et al., 1984). También se utiliza la relación entre la absorción neta de CO_2 en la fotosíntesis (A) y la conductancia estomática (g_s) al vapor de agua, a lo que se denomina: “eficiencia intrínseca en el uso del agua” (EUA_i) (Tabla 1) (Lambers et al., 2008; Medlyn et al., 2017; Zhang et al., 2019). Este último es un parámetro que refleja la adaptabilidad de las plantas a las condiciones ambientales cambiantes (Farquhar & Sharkey, 1982; Zhang et al., 2019), ya que la EUA es una variable compleja, que varía tanto a nivel intra como interespecífico (Aranda, Forner, Cuesta, & Valladares, 2012; Flexas et al., 2016; Gimeno et al., 2021; Shrestha, Song, & Barbour, 2019). Así, el cambio en la conductancia estomática está influenciado principalmente por procesos fisiológicos y características morfológicas foliares de cada especie (Gimeno et al., 2021). Por ende, se puede evidenciar que la g_s juega un papel fundamental en la determinación de la EUA, ya que limita la difusión de CO_2 y del vapor de agua entre los tejidos fotosintéticos de las hojas y la atmósfera (Farquhar & Sharkey, 1982; Ma et al., 2021). De igual manera, este parámetro participa indirectamente en el desempeño de la carboxilación del sustrato RuBP (ribulosa-1,5-bifosfato) en relación con la concentración de CO_2 al interior de la

hoja. Ya que una baja g_s se asocia a una baja apertura estomática provocando una disminución de la concentración interna de CO_2 , reduciendo la carboxilación. Por lo tanto, la eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUAi) sería más apropiada que la instantánea para describir funciones bioquímicas en las plantas (Beer et al., 2009), ya que se centra en flujo del CO_2 y no solo en el del vapor de agua.

Sumado a lo anterior, la EUAi es un parámetro que permite crear un vínculo entre la medición a escala individual y a ecosistema completo, porque su determinación tiene en cuenta la variación del déficit de presión de vapor atmosférico (VPD) (Medlyn et al., 2017; Zhang et al., 2019), lo cual permite facilitar una comparación con diversas demandas atmosféricas y así entregar una aproximación de EUAi a nivel de ecosistema (Beer et al., 2009; Knauer et al., 2017). A este nivel, la EUA puede determinarse por la relación entre la producción primaria bruta (GPP), es decir, la energía total fijada por la fotosíntesis, y la evapotranspiración (ET) (Beer et al., 2009; Gimeno et al., 2021; Knauer et al., 2017; Medlyn et al., 2017), que corresponde a la combinación de la pérdida de agua por evaporación de la superficie del suelo y transpiración a nivel de la hoja, como se indica en la Tabla 1 (Hatfield & Dold, 2019).

La producción primaria bruta (GPP por sus siglas en inglés) puede ser estimada a partir de mediciones de flujo de carbono o covarianza de flujos y turbulencias verticales de gases de aire (Eddy covariance) (Gimeno et al., 2021; Keenan et al., 2013; Medlyn et al., 2017), la cual es una herramienta estadística que permite estimar flujos de CO_2 , vapor de agua y energía en la atmósfera, medidos a través de un analizador —dispuesto principalmente en una torre— ya sea cada media hora o a largo plazo (Medlyn et al., 2017; Zhang et al., 2019). Entonces, la EUA se puede determinar, a escala de dosel y ecosistema teniendo en cuenta GPP; pero, también se puede determinar teniendo en cuenta la conductancia superficial (G_s), la cual deriva de variables

meteorológicas y flujo de energía mediante la inversión de la ecuación de Penman-Monteith (Ecuación 1). Esto como una medida análoga de la eficiencia intrínseca en el uso del agua, y que se representa como EUAi* (Tabla 1) (Beer et al., 2009; Medlyn et al., 2017; Zhang et al., 2019):

$$G_s = \frac{\gamma LE g_a}{\Delta(R_n - G) + \rho C_p VPD g_a - LE (\Delta + \gamma)} \quad (1)$$

Donde:

Δ (Pa K⁻¹), pendiente de la presión de vapor saturado frente a la temperatura; $R_n - G$ (W m⁻²), energía disponible: diferencia entre la radiación neta (R_n) y el flujo de calor del suelo (G); ρ (kg m⁻³), densidad del aire; C_p (J kg⁻¹ K⁻¹) calor específico del aire; γ (Pa K⁻¹) constante psicrométrica; VPD (Pa), déficit de presión de vapor; LE (W m⁻²) flujo de calor latente; g_a (ms⁻¹) conductancia aerodinámica.

Finalmente, Beer et al., 2009 propusieron un método diferente para la medición de la EUA a nivel de ecosistema, donde la multiplicación de la producción primaria bruta (GPP) con el déficit de presión de vapor (VPD) conduce a una medida denominada como “eficiencia inherente en el uso del agua”, la que se representa como IEUA*. Y que al tener en cuenta la demanda de evaporación atmosférica permite ser una métrica más global (Keenan et al., 2013).

Tabla 1. Recopilación de métodos utilizados para determinar la eficiencia en el uso del agua, desde escala individual a ecosistema.

	Escala individual	Ecosistema
<i>Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)</i>	$EUA = \frac{A}{E} \quad (2)$	$EUA^* = \frac{GPP}{ET} \quad (4)$
<i>Eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUA_i)</i>	$EUA_i = \frac{A}{g_s} \quad (3)$	$EUA_i^* = \frac{GPP}{G_s} \quad (5)$
<i>Eficiencia inherente en el uso del agua (IEUA*)^a</i>	—	$IEUA^* = \frac{GPP \times VPD}{ET} \quad (6)$

Nota. ^aEl asterisco indica las definiciones de eficiencia en el uso del agua a nivel de ecosistema. A, Absorción neta de CO₂ en la fotosíntesis; E, Pérdida de agua por transpiración; g_s, Conductancia estomática; GPP, Producción primaria bruta; ET, Evapotranspiración; G_s, Conductancia superficial; VPD, Déficit de presión de vapor atmosférico. (Recuperado de Beer et al., 2009)

Por otra parte, dentro de los métodos para determinar la EUA, existe otro parámetro que aporta en esta medición: la composición isotópica estable de carbono (δ¹³C). Este parámetro proporciona un registro del equilibrio entre la oferta y la demanda de CO₂ que resulta del fraccionamiento de isótopos de carbono durante la fotosíntesis, y permite medir la EUA a nivel de hojas (G. Farquhar & Richards, 1984; G. D. Farquhar et al., 1989). Cuando se incorpora el CO₂ atmosférico, la RuBisCo discrimina a favor del isótopo ¹²C frente al isótopo “más pesado” (¹³C). Sin embargo, como respuesta fisiológica frente al

estrés abiótico, se cierran los estomas impidiendo que ingrese más CO_2 a la célula, por ende el ^{12}C se consume rápidamente y la proporción del isótopo ^{13}C intracelular aumenta con respecto al ^{12}C . Como consecuencia, la RuBisCo discrimina menos contra el isótopo ^{13}C , y la señal de $\delta^{13}\text{C}$ es más alta, lo que se traduce a una mayor EUA, ya que habría una menor g_s mientras que la fotosíntesis sigue siendo eficiente (O'Leary, 1981). Tradicionalmente, las composiciones de isótopos se miden en espectrómetros de masas, pero, gracias al desarrollo de analizadores ópticos de isótopos estables se han generado nuevas oportunidades para explorar la dinámica que existe entre el intercambio de agua y carbono en las hojas de las plantas (Barbour, 2017).

Ahora bien, hay que tener en cuenta que, al comparar las estimaciones de EUA a distintos niveles, existirán diferencias en las variables de CO_2 y H_2O en los cálculos, ya que las vías de entrada y salida en la hoja para estas variables no son exactamente iguales. Es por ello que entran en juego otros parámetros también, como la capa límite —para el caso de H_2O — y la tasa de carboxilación y la conductancia del mesófilo —para el caso del CO_2 — en los cálculos de la EUA (Gimeno et al., 2021).

La conductancia del mesófilo (g_m) corresponde a la conductancia de la difusión del CO_2 desde el espacio intercelular, o cavidades subestomáticas, hasta el sitio de carboxilación en el estroma (Cousins, Mullendore, & Sonawane, 2020; Evans, Kaldenhoff, Genty, & Terashima, 2009; Ma et al., 2021; Medlyn et al., 2017; Seibt, Rajabi, Griffiths, & Berry, 2008). En especies C3, la medición simultánea del intercambio de gases y la discriminación de isótopos de carbono fotosintéticos, es uno de los métodos utilizados para determinar la g_m , por consiguiente, esta medida está relacionada positiva y directamente con la conductancia estomática (g_s). Por lo tanto, ambos parámetros limitan la fotosíntesis y por ende la EUAi (Gimeno et al., 2021). En especies C4 existe una técnica que proporciona una medición de la conductancia al CO_2 en las

células del mesófilo (Barbour, Evans, Simonin, & Von Caemmerer, 2016). Esto es a través de mediciones de intercambio de gases, combinado con la medición simultánea de la composición de isótopos de oxígeno en el vapor de agua transpirada ($\delta^{18}\text{O}_\text{E}$) en los sitios de evaporación en la hoja y la composición isotópica de oxígeno del CO_2 asimilado por la fotosíntesis ($\delta^{18}\text{O}_\text{A}$) en los espacios de aire intercelulares de la hoja (Barbour, 2017).

De acuerdo con todo esto, se sugiere que la incorporación de g_m a los cálculos de la EUA podría proporcionar estimaciones integradoras más completas y confiables de la eficiencia en el uso del agua, reflejando así el verdadero impacto que genera el estrés abiótico —y específicamente hídrico— en las plantas (Gimeno et al., 2021). Así como también, permitiría entender en su totalidad el funcionamiento de las respuestas dinámicas en la planta, la coordinación del transporte de CO_2 y agua, para predecir como serán las respuestas bioquímicas frente al estrés hídrico (Barbour, 2017).

2. FOTOSÍNTESIS EN LAS ESPECIES C3 Y C4

La fotosíntesis es un proceso en el que intervienen múltiples reacciones bioquímicas, las cuales en conjunto requieren de una energía libre de Gibbs (ΔG°) de aproximadamente $+2840 \text{ kJ mol}^{-1}$ para la síntesis de glucosa, lo cual se resume en la siguiente ecuación (Azcón, 2008; Bob B. Buchanan, 2015):



Donde; $h\nu$ representa la energía lumínica.

En general, la fotosíntesis incluye el proceso de fijación de CO_2 por el Ciclo de Calvin-Benson-Bassham, con la liberación de oxígeno y pérdida de agua a través de los estomas (Fahad et al., 2017). En eucariotas, todas las reacciones

y procesos implicados en la fotosíntesis ocurren en el cloroplasto (Azcón, 2008; Bob B. Buchanan, 2015; Fahad et al., 2017).

De manera más específica, la fotosíntesis se distingue en dos procesos principales que ocurren de manera simultánea, pero en distintas regiones del cloroplasto: las reacciones de las membranas del tilacoide (fase clara) y las reacciones del estroma (fase oscura) (Bob B. Buchanan, 2015). En las reacciones de las membranas del tilacoide se genera la absorción de fotones por parte de los pigmentos (principalmente clorofila) que están asociados a dos fotosistemas: fotosistema I (PSI) y fotosistema II (PSII). Estos pigmentos se encuentran insertos en las membranas de los tilacoides —en los cloroplastos— donde la energía de excitación se transfiere a los centros de reacciones de los fotosistemas, impulsando así las reacciones que se llevan a cabo. Luego, los electrones que provienen de la lisis del agua se transportan a lo largo de la cadena de transporte de electrones para producir NADPH (agente reductor) y ATP (molécula energética) (Figura 6). En la segunda parte de la fotosíntesis, el NADPH y el ATP se utilizan en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham, donde ocurre la reducción del carbono. Aquí la ribulosa-1,5-bifosfato (RuBP) y el CO_2 son los sustratos de la principal enzima de este ciclo: la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa / oxigenasa (RuBisCo) (Lambers et al., 2008).

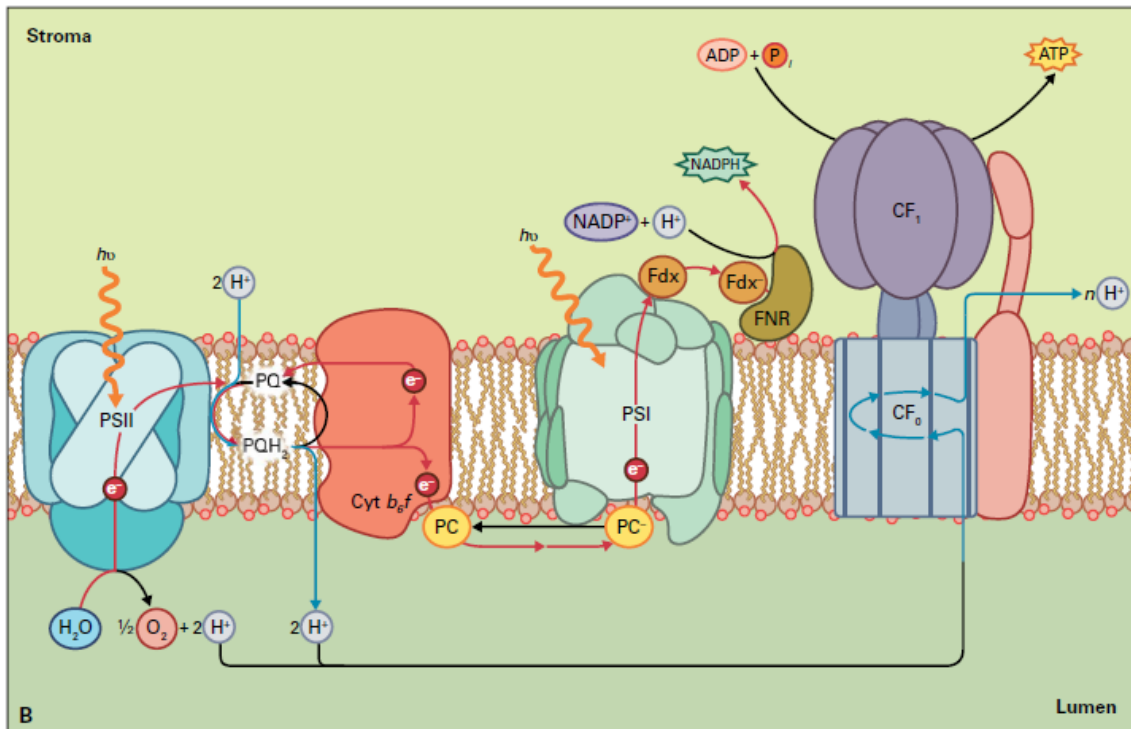


Figura 6. Organización de membrana del proceso de fotosíntesis. Los componentes de la cadena de transporte de electrones del cloroplasto y el aparato de síntesis de ATP se ilustran en la membrana del tilacoide. Acá se muestran cuatro complejos de membrana (PSII, PSI, el complejo Citocromo b₆f (Cyt b₆f) y la ATP sintasa). Los electrones se transfieren del agua al NADP+; acompañando esta transferencia de electrones, se establece un gradiente de protones a través de la membrana. Este gradiente electroquímico se utiliza finalmente para la síntesis de ATP por la ATP sintasa. Fdx, ferredoxina; FNR, ferredoxina-NADP+ reductasa. (Recuperado de Bob B. Buchanan, 2015).

De acuerdo con esto, entonces ¿cuáles serían las diferencias entre una planta con un metabolismo C3 y una con un metabolismo C4?

En especies que tienen un metabolismo C3 —que incluye a la mayoría de las plantas terrestres—, el primer paso para fijar el carbono proveniente del CO₂ atmosférico es su incorporación en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham (Figura 7), el cual implica la carboxilación de la RuBP por la RuBisCo para formar dos

moléculas de 3-fosfoglicerato (3-PGA), un compuesto de tres átomos de carbono (C3) (Lambers, Chapin, & Pons, 2008). Mientras que las especies de tipo C4 poseen un metabolismo fotosintético modificado, ya que la fijación del CO₂ atmosférico y su posterior incorporación en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham están separados anatómicamente (Figura 7). El primer paso corresponde a la carboxilación del sustrato fosfoenolpiruvato (PEP) por la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEP carboxilasa) para formar una molécula de cuatro carbonos (C4). Luego, en otro compartimento celular, este CO₂ se incorpora en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham gracias a la RuBisCo (Kanai & Edwards, 1999)

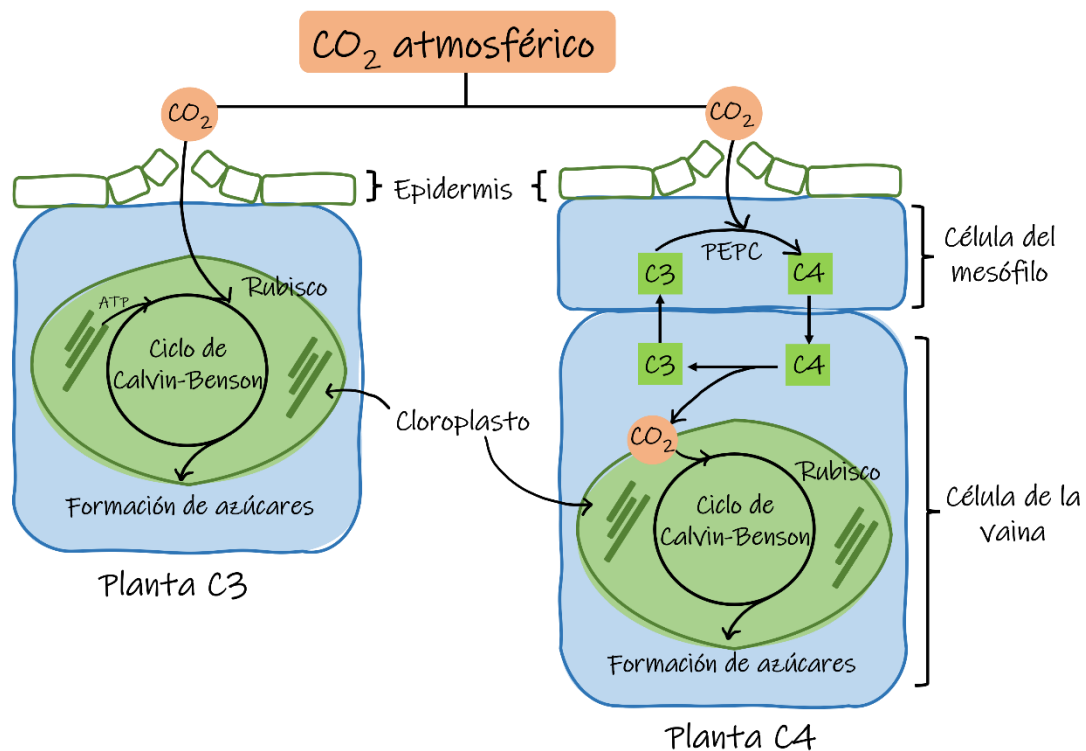


Figura 7. Fotosíntesis y asimilación de CO_2 en plantas C3 y C4. Diferencias fotosintéticas entre ambas especies, en plantas C4 el proceso está separado en dos compartimentos, uno en donde se captura el CO_2 atmosférico y otro en donde se realiza la fijación de este CO_2 a través del ciclo de Calvin-Benson-Bassham. (Modificado de Bob B. Buchanan, 2015).

Una de las moléculas de 3-PGA formadas en el metabolismo C3 se reduce a una triosa-fosfato (triosa-P), parte de la cual se exporta al citosol, donde se utiliza finalmente para producir sacarosa y otros metabolitos que se exportan a través del floema o que se utilizan en las hojas (Lambers et al., 2008). La otra molécula de PGA se utiliza para la regeneración de RuBP, y así, continuar el ciclo.

Sin embargo, la enzima RuBisCo, en el proceso de fotosíntesis, no solo cataliza la carboxilación de RuBP, sino que también su oxigenación, y esto dependerá

de las concentraciones relativas de CO_2 y O_2 en el sitio activo de RuBisCo, las propiedades cinéticas específicas de la especie para esta enzima, la especificidad de la enzima para cada gas, así como también de la temperatura en las hojas (Bloom & Kameritsch, 2017; Lambers et al., 2008), ya que al aumentar la temperatura se favorece la actividad oxigenasa de la RuBisCo (Azcón, 2008).

Además, se ha visto que su tasa catalítica por molécula de proteína (K_{cat}) es extremadamente lenta, y la unión del sustrato primario, CO_2 , es desplazado competitivamente por O_2 . Por ende, se ha ganado la reputación de ser una enzima altamente ineficiente en la fijación de carbono; ya que, en plantas C_3 , alrededor del 30% de las veces la enzima confunde CO_2 con O_2 (Parry et al., 2013; Poudel et al., 2020). Es así como la reacción de oxigenación —donde se fija O_2 en vez de CO_2 en la planta— se denomina fotorrespiración o también llamada vía C_2 , el cual es un proceso que disminuye la eficiencia de la fotosíntesis y la fijación del carbono fotosintético en más del 25% (Shi & Bloom, 2021), además produce un gasto energético importante, que por consiguiente disminuye la eficiencia en el proceso de asimilación de CO_2 . Aun así, este proceso inevitablemente ocurre en condiciones que no son favorables, donde hay una disminución de CO_2 circulante y aumentos de temperatura. (Azcón, 2008; Lambers et al., 2008).

Sin embargo, a pesar de que se considera a la fotorrespiración como una reacción secundaria no deseada, para ser justos, esta vía está vinculada a varios otros procesos metabólicos que son esenciales para la planta, como la asimilación de nitrógeno, biosíntesis de aminoácidos y fosfolípidos, como también puede ser beneficiosa a través de la disipación del exceso de energía (Busch, 2020).

El proceso de fotorrespiración comienza con la oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP) para formar una molécula de 3-fosfoglicerato (3-PGA) y una molécula 2-fosfoglicolato (2-PG), pero debido a que 2-PG es un compuesto tóxico para muchas enzimas en el metabolismo fotosintético, y que además oxida el carbono orgánico sin generar ATP, es que se considera un proceso derrochador. De hecho, esta vía gasta 3,5 ATP y 2 NADPH por RuBP regenerada, pero no produce carbono orgánico adicional. Mientras que la vía de carboxilación gasta 3 ATP y 2 NADPH por RuBP regenerada y produce carbono en hexosa (Bloom & Lancaster, 2018; Busch, 2020; Canvin, 1979; Zelitch, 1979).

Luego, el 3-PGA que se produce durante la fotorrespiración se convierte en triosa fosfato y se usa para regenerar RuBP, y, por otro lado, el 2-PG se convierte en glicolato mediante la 2-fosfoglicolato fosfatasa. Además, en el peroxisoma y en la mitocondria, una serie de reacciones convierte el glicolato en glicerato, el cual finalmente se devuelve al cloroplasto para regenerar RuBP nuevamente y continuar el ciclo (Figura 8) (Bloom & Lancaster, 2018). Entonces, esta vía recupera el 75% del carbono 2-PG al convertirlo en 3-PGA, que luego se retroalimenta al ciclo CBB. Mientras que el 25% de carbono restante se libera como CO₂ de la fotorrespiración (Busch, 2020; Sharkey, 1988)

Entonces, debido a esta particularidad de la RuBisCo, y gracias a la importancia que posee esta enzima en el proceso de fotosíntesis, es que se ha convertido en un objetivo importante para la ingeniería genética, con el fin de mejorar tanto la tasa catalítica como la especificidad del sustrato en las plantas superiores, para aumentar la eficiencia de los cultivos y el uso del agua (Parry et al., 2013; Poudel et al., 2020).

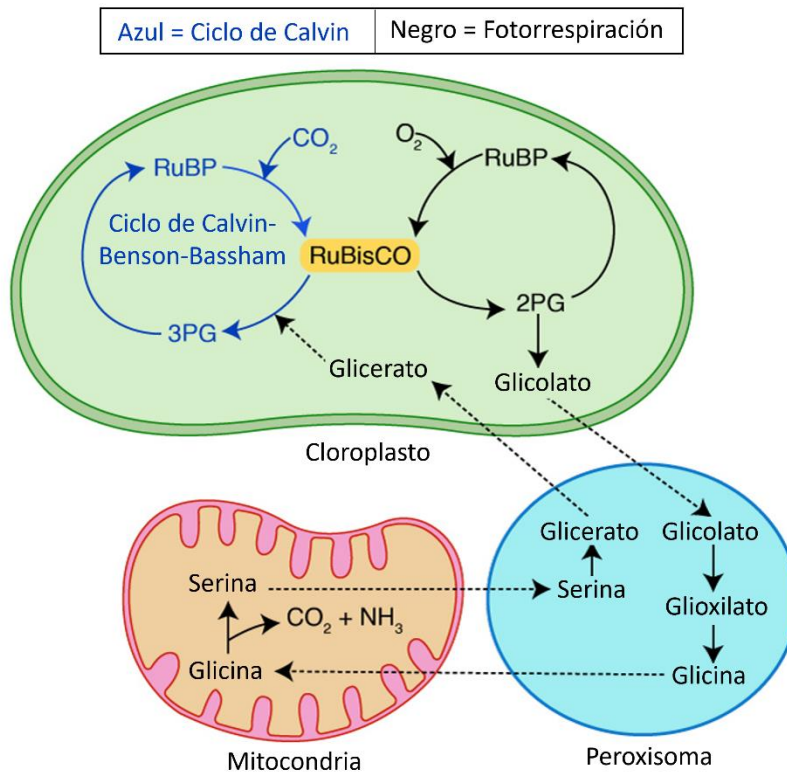


Figura 8. Fotorrespiración en plantas C3. En el cloroplasto, la RuBisCo cataliza la oxidación de la RuBP y forma una molécula de 3-PG y una molécula de 2-PG, que posteriormente se transforma en glicolato. El glicolato es transportado al peroxisoma, donde es metabolizado a glioxilato y luego a glicina en una reacción de transaminación. La glicina es transportada a la mitocondria y es catabolizada a NH₃ y CO₂, a su vez formando serina, la cual es transportada nuevamente al peroxisoma. Esta serina es transformada a glicerato, que finalmente es transportado al cloroplasto donde se reintegra al ciclo de Calvin-Benson-Bassham como 3-PG. (Modificado y recuperado de (Bhuyan, (s. f.)).

A través de los años las plantas terrestres han desarrollado la capacidad de adaptarse y generar procesos metabólicos distintos, que surgen como una modificación evolutiva de la vía fotosintética del tipo C3.

Es así como existe la vía denominada C4, en donde la principal enzima involucrada es la PEP carboxilasa o PEPC, la cual es una enzima insensible al O₂ y con afinidad exclusiva hacia el CO₂ (Sedelnikova et al., 2018), siendo ésta una de las diferencias más grandes en términos bioquímicos con respecto a la enzima RuBisCo.

En una primera reacción, PEPC forma una molécula de cuatro carbonos (C4), de ahí el nombre de esta vía (Azcón, 2008). El CO₂ atmosférico ingresa a la célula del mesófilo a través del estoma, donde es fijado por la PEPC para formar oxaloacetato, luego malato o aspartato. Éstos últimos son transportados a la célula de la vaina, se descarboxilan y liberan CO₂, el cual es fijado por la RuBisCo y asimilado en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham (Kanai & Edwards, 1999).

La fotosíntesis C4 de manera histórica se ha clasificado en tres subtipos basados en las enzimas descarboxiladoras involucradas. Así, el proceso de descarboxilación y posterior liberación de CO₂ en la célula de la vaina puede estar catalizado por la enzima málica dependiente de NAD (NAD-ME), por la enzima málica dependiente de NADP (NADP-ME) o por la enzima PEP carboxiquinasa (PEPCK) (Rao & Dixon, 2016).

Las modificaciones bioquímicas que presentan estas plantas están asociadas a cambios (generalmente) anatómicos que permiten aislar, por una parte, los mecanismos de fijación de CO₂ en las células del mesófilo y, por otra parte, aislar la asimilación de este CO₂ por la RuBisCo para continuar con el ciclo de Calvin-Benson-Bassham e inhibir la fotorrespiración (Figura 9) (Azcón, 2008; R. F. Sage, & Sage, T. L., 2013), esta separación anatómica de la hoja es conocida como Kranz (Sedelnikova, Hughes, & Langdale, 2018), palabra derivada del alemán que significa corona (Brown, 1975). Esto, genera una tasa de fotosíntesis superior a la de las plantas C3, ya que la fijación del CO₂ por la

PEP carboxilasa y la posterior descarboxilación ocurren relativamente rápido, lo que genera la acumulación de una alta concentración de CO_2 , y permite que la actividad oxigenasa de la RuBisCo esté prácticamente inhibida, en consecuencia de ello, las plantas C4 tienen tasas insignificantes de fotorrespiración (Lambers et al., 2008). Además, esto también permite un uso eficiente del agua, ya que la conductancia estomática es baja lo que impide que se elimine gran cantidad de agua por transpiración a través de los estomas (R. F. Sage, & Sage, T. L., 2013). Sin embargo, se ha visto que la respuesta de las plantas C4 al aumento de CO_2 atmosférico es menor que en las plantas C3. Esto porque la vía C4 ya posee un metabolismo fotosintético que permite una mayor eficiencia en la fijación del carbono a diferencia de la vía C3, la cual, al no poseer esta modificación fotosintética el aumento de CO_2 favorece la reacción de carboxilación de la RuBP, y al mismo tiempo inhibe el proceso de fotorrespiración (Leakey et al., 2012).

Así, de acuerdo a estas dos vías de asimilación de CO_2 en la fotosíntesis, la vía C4 tiene una ventaja fisiológica por sobre la vía C3 bajo estrés por sequía. Esto debido a su anatomía Kranz y mayor EUA, donde incluso en condiciones de escasez de agua son capaces de asimilar CO_2 para producir más materia orgánica (Yang et al., 2021). Esto se debe a que las plantas C4 se encuentran mejor adaptadas a climas cálidos y tienden a habitar ambientes más secos que las plantas C3. Debido a ello, en estas condiciones, las gramíneas C4 alcanzan tasas más altas de fotosíntesis neta (A) y tasas más bajas de conductancia estomática al vapor de agua (g_s), por lo tanto, exhiben una mayor eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUA_i) (S. Taylor, Ripley, Woodward, & Osborne, 2011; S. H. Taylor et al., 2010).

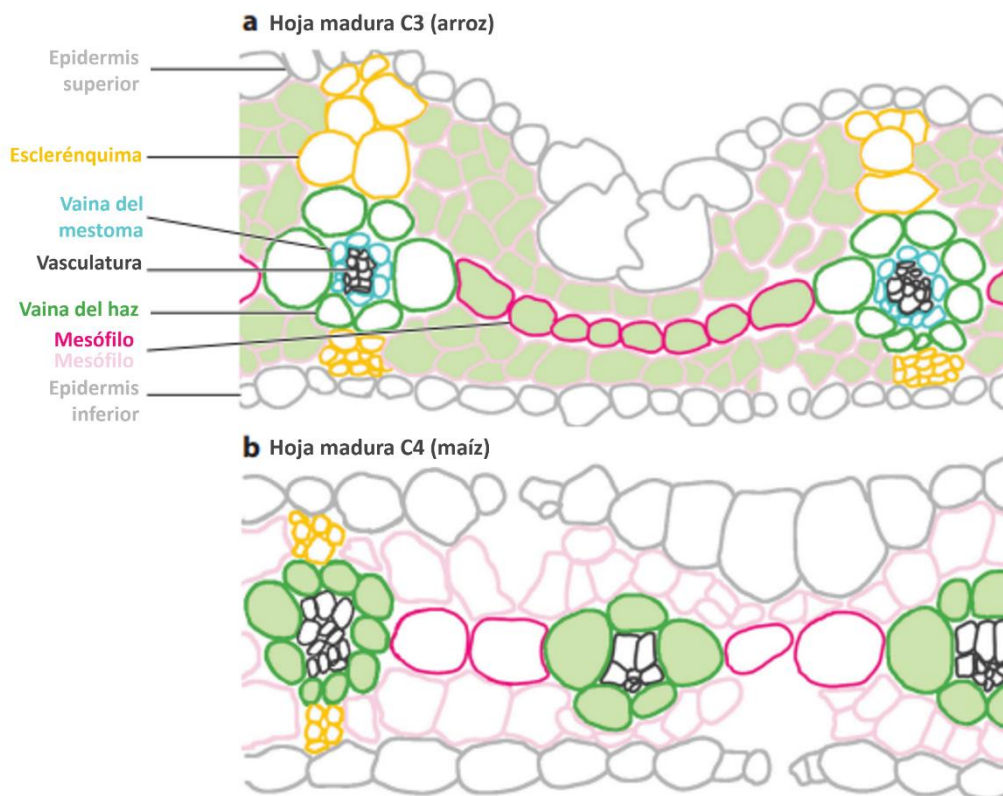


Figura 9. Comparación de la anatomía de las hojas en plantas tipo C3 y C4. Diagramas que muestran secciones transversales de hojas maduras de arroz C3 (a) y maíz C4 (b). Contornos celulares: epidermis superior e inferior (gris), esclerénquima (tejido fortalecedor compuesto por células con paredes celulares engrosadas) (amarillo), vasculatura (negro), vaina del mestoma (azul), vaina del haz (verde oscuro) y mesófilo (claro y rosa oscuro). La capa intermedia de células del mesófilo (rosa oscuro) resalta la diferencia en el número de células entre las venas en las especies C3 y C4. La localización de la acumulación de la enzima RuBisCo (verde claro) también difiere. (Recuperado y modificado de Sedelnikova et al., 2018).

Bajo este contexto, se puede sugerir entonces que cualquier cambio en la fotosíntesis —inducido por algún tipo de estrés—, generará efectos en el funcionamiento de toda la maquinaria fotosintética, en la expansión foliar, y en

la inducción de un aceleramiento de la senescencia foliar (Razi & Muneer, 2021).

3. EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA EN ESPECIES C3 Y C4

Es importante recalcar que la fotosíntesis está limitada por la reducción de la conductancia estomática en condiciones de sequía, es decir, por la menor entrada de CO_2 a través del estoma (Fahad et al., 2017). Entonces, bajo estas condiciones habría un mayor cierre estomático con el fin de evitar la pérdida de agua por transpiración, lo cual reduciría la disponibilidad interna de CO_2 y por ende limitaría la carboxilación. La disminución interna de CO_2 causaría un aumento de la fotorrespiración en especies C3 y por ende se generaría una ineficiencia fotosintética y una menor EUA (Razi & Muneer, 2021). Además, bajo estrés por sequía se ve afectada la actividad de la RuBisCo, debido a la unión de inhibidores al sitio activo, como 2-carboxiarabinitol 1-fosfato (Fahad et al., 2017). Adicionalmente, el estrés provoca la disminución de su síntesis. Lo anterior genera una reducción en la disponibilidad y contenido de la RuBP, en el caso de cultivos C3, y una reducción de la actividad de la PEP-carboxilasa, NAD-ME y NADP-ME en el caso de cultivos C4; ya que su síntesis está limitada debido a la inhibición de la actividad de las enzimas bajo estrés hídrico (Hussain et al., 2019; Yang et al., 2021).

En resumen, la escasez de agua genera reducciones y alteraciones en la fotosíntesis neta, transpiración, conductancia estomática, CO_2 intracelular, y, por ende afecta de forma directa a la EUA (Hussain et al., 2019).

Por otro lado, el contenido de clorofila, que es uno de los componentes principales del cloroplasto, y que juega un rol vital en la fotosíntesis, tiende a disminuir su biosíntesis bajo estrés hídrico, debido a un mayor estrés oxidativo. Esto puede ser provocado por una degradación de este componente, causada directamente por la sequía. Así, la proporción de clorofila *a* y *b* se modifica, lo

que provoca cambios en la función fotosintética, ya que el contenido de proteínas de unión a clorofila también se encuentra disminuido, lo que lleva a una reducción de los pigmentos asociados con el PSII (Farooq, Wahid, Kobayashi, Fujita, & Basra, 2009). Y son justamente estos cambios en los pigmentos que hacen que el color de las hojas cambie a marrón amarillento bajo este escenario (Yang et al., 2021).

La disminución transitoria del PSII fue estudiada por Ping & Bai, 2015; donde determinaron que el rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) disminuyó de 0,83 a 0,76 luego de 9 días de sequía en árboles de manzana cuando había un contenido relativo de agua del suelo (SRWC) por debajo del 38%, lo cual indicó que se estaba produciendo estrés por fotoinhibición en árboles sometidos a sequía severa.

3.1. Formación de especies reactivas del oxígeno (ROS)

Durante periodos de sequía, la absorción y utilización de energía lumínica en la vía fotoquímica no es eficiente, debido a que la fotosíntesis disminuye y el exceso de energía consumida puede ser disipada a través de otros procesos, por ende, no puede ser ocupada en la vía de asimilación del carbono (CO_2) (Ping & Bai, 2015).

Las células vegetales continuamente producen especies reactivas de oxígeno, como: anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y oxígeno en estado de singlete ($^1\text{O}_2$) en varias rutas metabólicas como subproductos, en los cloroplastos y en la mitocondria (Azcón, 2008). Pero, bajo un déficit hídrico sumado a una mayor intensidad de luz y a una alteración en la estructura de los cloroplastos, los cuales se vuelven muy sensibles al estrés por sequía extrema, genera una sobre-excitación de la maquinaria fotosintética, donde además hay una disminución de la fijación de CO_2 por el cierre

estomático. Por ende, se favorece la producción de ROS, una reducción de O_2 por el PSI y una ineficiencia del consumo de NADPH y ATP. (Fahad et al., 2017; Lawlor & Cornic, 2002).

La presencia y acumulación de estas sustancias es altamente tóxica y genera daños oxidativos en el aparato fotosintético y en los sistemas de endomembranas de la célula. Por ejemplo, daños como: un incremento de peroxidación lipídica, degradación de proteínas, fragmentación del ADN e incluso la muerte de la célula (Deeba et al., 2012). Por ello, compartimentos subcelulares en donde tienen lugar una alta actividad metabólica, como los cloroplastos, las mitocondrias y los peroxisomas son los lugares para la producción de ROS (Azcón, 2008; Bob B. Buchanan, 2015). En los cloroplastos se generan mediante la reacción de Mehler, la cual se refiere a una reducción del oxígeno molecular O_2 hasta superóxido y H_2O_2 ; en las mitocondrias por una consecuencia en un daño en la cadena de transporte de electrones, y en los peroxisomas mediante la fotorrespiración (Razi & Muneer, 2021).

Específicamente, el PSI es el principal productor de radical superóxido (O_2^-). Mientras que el PSII participa en la producción de oxígeno en estado de singlete (1O_2) de dos maneras: primero por la interrupción del equilibrio entre la captación de luz y la utilización de energía cuando la planta está sometida a cualquier estrés abiótico y, segundo, por la disminución del transporte de electrones a lo largo de la cadena, lo que afecta directamente al complejo de captación de luz (LHC) en el PSII. Esto conduce a estrés oxidativo, por ejemplo, una peroxidación de los lípidos de la membrana y de los ácidos grasos poliinsaturados, afectando la integridad y función de las proteínas de membrana, lo que podría perjudicar al crecimiento de las plantas. (Razi & Muneer, 2021; Triantaphylides et al., 2008).

En el caso de los peroxisomas, estos organelos son los principales lugares de producción de H_2O_2 . Cuando se produce el cierre de los estomas bajo condiciones de sequía, se fomenta la formación de glicolato resultante del incremento de la fotorrespiración. Este glicolato se oxida por la glicolato oxidasa generando H_2O_2 , formando así estas especies reactivas y proporcionando mayor estrés oxidativo bajo estrés hídrico (Palma, Corpas, & del Río, 2009; Razi & Muneer, 2021).

Ahora, el equilibrio entre la producción y eliminación de ROS a nivel intracelular debe regularse estrictamente con el fin de minimizar las consecuencias que estos generan en la planta, para así evitar daños en los componentes celulares, mantener el crecimiento, el metabolismo y la productividad de la planta en general (Møller & Sweetlove, 2010). Esta capacidad de eliminar ROS y reducir sus efectos dañinos puede correlacionarse con la tolerancia a la sequía de las plantas (Deeba et al., 2012).

Sin embargo, el grado de tolerancia de las plantas a la sequía depende de la especie y su adaptabilidad a un determinado clima, así, las plantas en tales entornos tienen mecanismos bioquímicos y fisiológicos que les confieren mayor capacidad de soportar las consecuencias del estrés hídrico y la sequía (Valliyodan & Nguyen, 2006).

4. TOLERANCIA AL ESTRÉS HÍDRICO EN *CHENOPODIUM QUINOA* C3 Y *AMARANTHUS* SPP C4

Chenopodium quinoa Willd (quinoa o quinua) y *Amaranthus* spp (amaranto), ambas plantas herbáceas anuales dicotiledóneas de la familia *Amaranthaceae* poseen características nutricionales superiores a la mayoría de los cereales consumidos en países no andinos, como el maíz, el trigo y el arroz. Quinoa posee un contenido proteico promedio de 14,1%, fibra 7,0%, vitaminas (B1 y B3) y minerales (fósforo y potasio), mientras que amaranto posee un contenido proteico promedio de 13,6%, fibra 6,7%, vitaminas (A y C) y minerales (calcio, hierro y fósforo) (Schmidt et al., 2021).

Los primeros registros de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) datan de hace unos 7000 años y se cree que fue cultivada por las culturas precolombinas, como la cultura Tiwanaku en Bolivia y posteriormente por el imperio Inca. Entre ellos era conocida como el “grano madre” e incluso era utilizada en ceremonias religiosas (Jarvis et al., 2017). *C. quinoa* es un cultivo nativo de los Andes, por ende, se puede encontrar en zonas del altiplano (>3500m sobre el nivel del mar) y en la costa. Debido a que posee una amplia diversidad ambiental y geográfica, se ha visto que es capaz de desarrollar respuestas adaptativas diferentes para sobrevivir en condiciones climáticas distintas (Pinto-Irish et al., 2020). Su diversidad se divide en cinco ecotipos principales: Highlands o Altiplano (Perú y Bolivia), Valles interandinos (Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú), Salares —cultivada en áreas de lagos salados de gran altitud y con un volumen limitado de lluvia anual, 150 a 300 mm— (Bolivia, Chile y Argentina), Yungas —cultivada bajo condiciones tropicales— (Bolivia) y Lowlands o Costa —con precipitaciones que varían de 500 a 1500 mm anuales— (Chile) (Martínez, Veas, Jorquera, San Martín, & Jara, 2009; A. Morales, Zurita-Silva, Maldonado, & Silva, 2017; Schmidt, Verruma-Bernardi, Forti, & Borges, 2021).

Quinoa (Figura 10) es una especie anual dicotiledónea C3 de la familia *Amaranthaceae* (Maldonado-Taipe, Patirange, Schmöckel, Jung, & Emrani, 2021). Posee un elevado contenido de proteínas, alrededor de un 14%, todos los aminoácidos esenciales y es libre de gluten (S. E. Jacobsen & Christiansen, 2016; Peñarrieta, Alvarado, Åkesson, & Bergenståhl, 2008). Tiene una alta tolerancia a diferentes tipos de estrés abiótico (Méndez-Espinoza & Vallejo Reyna, 2019); como la temperatura, la salinidad del suelo, disponibilidad de agua y de nutrientes, así como la capacidad de crecer en suelos marginales (Azcón, 2008; Hariadi, Marandon, Tian, Jacobsen, & Shabala, 2011). A pesar de que la quinoa durante muchísimos años ha sido un alimento básico en la dieta de la población andina, hace poco está entrando en el mercado mundial, y debido a todas sus características tiene un gran potencial para convertirse en uno de los cultivos más prometedores para asegurar la alimentación mundial (Basantes-Morales, Alconada, & Pantoja, 2019; FAO, 2019; Schmidt et al., 2021).

Genéticamente, quinoa es alotetraploide ($2n = 4x = 36$), es decir, que resultó de la hibridación de dos especies ancestrales diploides (Jarvis et al., 2017). Análisis filogenéticos confirmaron que el origen tetraploide proviene de dos diferentes grupos genómicos, denominados como genoma A y B, los cuales, se sugiere que podrían compartir parentescos similares (Kolano et al., 2016). Estudios de secuenciación identificaron grupos de diploides norteamericanos y euroasiáticos como los candidatos de los genomas A y B, respectivamente. Se sugirió que la hibridación se produjo en América del Norte. Es así como *Chenopodium pallidicaule*, comúnmente llamado cañahua o kañiwa, corresponde al diploide del genoma A, y *Chenopodium suecicum* al diploide del genoma B (Jarvis et al., 2017).



Figura 6. *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa o quinua), ecotipo Socaire, crecidas en vivero. (A) Desarrollo vegetativo, código 18: 8 pares de hojas visibles. (B) Emergencia de la inflorescencia, código 51: inflorescencia es visible desde arriba. (C) Maduración del fruto, código 81: el grano es lechoso, se puede aplastar fácilmente con la uña, posee contenido líquido y pericarpio verde. Estados fenológicos basados según el código BBCH, de acuerdo a (Sosa-Zuniga, Brito, Fuentes, & Steinfort, 2017).

Por otro lado, el amaranto (*Amaranthus spp*) también fue domesticada hace unos 7000 años en mesoamérica y era cultivada para distintos propósitos, tanto para alimentación como para ceremonias en las civilizaciones Inca, Maya y Azteca (Schmidt et al., 2021). El género *Amaranthus* consta de alrededor de 70 especies y algunas de estas se consumen como verduras, tanto frescas como cocidas, o como pseudocereales, siendo estos últimos denominados como amarantos de grano (Figura 11) (Wu & Blair, 2017), los cuales son muy utilizados en la elaboración de panes y galletas (Schmidt et al., 2021).

El amaranto de grano (*A. hypochondriacus* L. nativa de México, *A. caudatus* L. nativa de los Andes y *A. cruentus* L. (Figura 12) nativa de Guatemala) es una planta C4, herbácea anual dicotiledónea, erguida y de rápido crecimiento dentro de la familia *Amaranthaceae*. (Cataldo, Sellami, & Lavini, 2021).

Existen al menos tres hipótesis del origen evolutivo de las especies de amaranto de grano, dos en donde se cree que *A. hybridus* corresponde a la base evolutiva de los tres tipos de amaranto de grano, y una en donde se cree que estas tres especies surgieron de manera independiente de progenitores silvestres, como *A. powellii* (para *A. hypochondriacus*), *A. quitensis* (para *A. caudatus*) y *A. hybridus* (para *A. cruentus*). Sin embargo, aún faltan estudios para dilucidar las relaciones evolutivas de los granos de amaranto, ya que aún no se ha generado evidencia concluyente que respalde la hipótesis final. Lo que sí se sabe es que la mayoría de los amarantos existen como diploides ($2n = 32$ o $2n = 34$) (Andini, Sulaiman, Kadapi, & Ohsawa, 2021).

Por otra parte, se sabe que el amaranto es relativamente tolerante a una variedad de factores abióticos, como la salinidad, suelos bajos en nutrientes y el estrés por sequía. Tales características lo transforman en un cultivo prometedor para las regiones semiáridas. Además, al igual que la quinoa, presenta una fuente rica de proteína, de fibra, grasa, hidratos de carbono, vitaminas y minerales (Cataldo et al., 2021), siendo, el contenido de proteína mayor que en los cereales (tabla 2), pero menor que las legumbres (Fischer et al., 2017; Rivera, Bocanegra-García, & Monge, 2010).

Sin embargo, se cree que las distintas especies de amaranto de grano (i.e. *A. hypochondriacus*, *A. caudatus* y *A. cruentus*) tendrían una tolerancia distinta al estrés por sequía. De acuerdo con eso, se ha determinado que *A. hypochondriacus*, tiene una mayor tolerancia en comparación con las otras especies (González-Rodríguez et al., 2019); lo cual se presume se debe a una

mejor capacidad para establecer un ajuste osmótico y una mayor respuesta de ABA (González-Rodríguez et al., 2019; Wu & Blair, 2017).

Es así, que, debido a sus características nutricionales y su extraordinaria adaptabilidad para crecer en condiciones climáticas adversas, es que últimamente ha ganado popularidad y mayor demanda a nivel mundial. Catalogándolo también como un cultivo prometedor en el contexto del cambio climático y para sobrellevar la seguridad alimentaria mundial (Escudero, De Arellano, Luco, Giménez, & Mucciarelli, 2004; Schmidt et al., 2021).

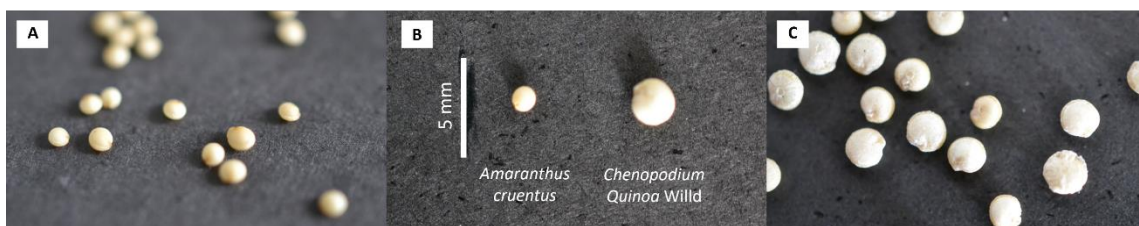


Figura 11. Comparación de semillas de amaranto y quinoa. (A) Semillas secas de *Amaranthus cruentus*. (B) Semillas secas de ambas especies, se observan diferencias en el tamaño. (C) Semillas secas de *Chenopodium quinoa* Willd.



Figura 12. *Amaranthus cruentus* (amaranto), crecidas en vivero. (A) Desarrollo vegetativo, código 16: 11 a 12 hojas visibles (B) Emergencia de la inflorescencia, código 50: comienzo de la emergencia de la panícula (panícula aún encerrada por hojas). (C) Maduración del fruto, código 80: el grano es lechoso, contenido de grano suave pero seco, se puede aplastar fácilmente con la uña. Estados fenológicos basados según el código BBCH, de acuerdo a (Martínez-Núñez et al., 2019).

Tabla 2. Comparación nutricional^a entre los pseudocereales *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) y *Amaranthus cruentus* L. (amaranto), y los cereales *Oryza sativa* L. (arroz) y *Zea mays* (maíz)

	Pseudocereales		Cereales	
	Quinoa	Amaranto	Arroz	Maíz
<i>Proteína</i> (g 100g ⁻¹)	14,12	13,56	7,43	6,59
<i>Carbohidrato total</i> (g 100g ⁻¹)	64,16	65,25	82,24	28,56
<i>Fibra</i> (g 100g ⁻¹)	7,00	6,70	1,06	3,92
<i>P</i> (mg 100 g ⁻¹)	457,00	557,00	150,75	112,71
<i>K</i> (mg 100 g ⁻¹)	563,00	508,00	112,98	184,82
<i>Ca</i> (mg 100 g ⁻¹)	47,00	159,00	6,98	1,96
<i>Mg</i> (mg 100 g ⁻¹)	197,00	248,00	49,75	26,74
<i>Fe</i> (mg 100 g ⁻¹)	4,57	7,61	0,62	1,14
<i>Tiamina (B1)</i> (mg 100 g ⁻¹)	0,36	0,12	0,21	0,30
<i>Vitamina B6</i> (mg 100 g ⁻¹)	0,49	0,52	0,05	0,04

Nota. ^aRecuperado en octubre, 2021 de la página web de Universidade de São Paulo; Food Research Center (Center).

Tanto quinoa como amaranto, al ser cultivos que muestran tolerancia al estrés abiótico, poseen distintas respuestas a la sequía; algunas que comparten con diversas especies y unas más específicas que están relacionadas con su fisiología, morfología y metabolismo (Schmidt et al., 2021).

5. ESTRATEGIAS DE TOLERANCIA AL ESTRÉS HÍDRICO EN *CHENOPODIUM QUINOA* WILLD Y *AMARANTHUS* SPP

La respuesta de la planta al estrés inicia en el momento en que ésta lo reconoce a nivel celular. Se activan vías de transducción de señales para distribuir la información a nivel de toda la planta, lo que generalmente da como resultado cambios en la expresión genética que puede influir en el metabolismo y el desarrollo de la planta en su totalidad. De esta manera, se genera una serie de mecanismos con el único fin de evadir y/o tolerar el estrés, permitiendo la resistencia y supervivencia de la planta (Bob B. Buchanan, 2015).

Estos mecanismos corresponden a cambios moleculares, metabólicos, bioquímicos y fisiológicos; como la inducción de la expresión de genes de tolerancia, la producción de moléculas antioxidantes, factores de transcripción, expresión de hormonas y mensajeros secundarios como el Ca^{2+} (Bob B. Buchanan, 2015; Farooq et al., 2009; Razi & Muneer, 2021; Seleiman et al., 2021).

De acuerdo con todo esto, ¿Qué sucede con quinoa y amaranto? ¿Cuáles son las respuestas de estas especies al estrés por sequía?

En primer lugar, *Chenopodium quinoa*, y al igual que la mayoría de otras especies, evita los efectos negativos de la sequía a través de un sistema radicular profundo y denso del tipo pivotante, reducción del área foliar —por caída de hojas— y por células pequeñas y de paredes gruesas adaptadas a una pérdida de agua (S-E Jacobsen, Mujica, & Jensen, 2003). (Vacher, 1998) ya había visualizado que la quinoa toleraba a la sequía a través de plasticidad del crecimiento y elasticidad de los tejidos.

El papel de ABA también juega un rol importante en la respuesta al estrés en quinoa. Jacobsen et al., 2009, determinaron que a los 2 días después del inicio

del estrés hídrico, al suspender el tratamiento de agua y nutrientes en las macetas, hubo un aumento de ABA en el xilema en comparación con el control, esto generó un cierre rápido de los estomas, y como consecuencia una disminución de g_s pero con una fotosíntesis neta (A) eficiente, lo que indica que en estas condiciones hay un aumento en la EUA_i , demostrando el rol de ABA en el ajuste estomático y en la EUA.

Sin embargo, este papel de ABA parece no ser tan esencial, ya que la quinoa podría sintetizar otros compuestos en la savia del xilema que podrían generar respuestas similares sobre los estomas (Sven-Erik Jacobsen, Liu, & Jensen, 2009). De hecho, se han reportado patrones de expresión genética de quinoa independientes de ABA en el genotipo más tolerante a la sequía, R49 (ecotipo Salares) que también permiten una aclimatación al déficit hídrico (A. Morales et al., 2017).

Por otro lado, Cataldo et al. (2021), realizó un experimento de tres años en donde se determinó que *Amaranthus* spp toleran el estrés por sequía debido a la profundidad alcanzada por su raíz principal y sistema de raíces más finas, por su metabolismo C4 (ver sección 2), por su alta eficiencia en el uso del agua y por la expresión de genes y factores de transcripción relacionados con el estrés. Además, se estableció que *A. hypochondriacus* es más tolerante al estrés que las demás especies de amaranto de grano, gracias a una mayor respuesta de ABA (González-Rodríguez et al., 2019).

Se ha visto que el ABA modula la actividad de PEPC en diferentes especies (Feria et al., 2008). De acuerdo con Aloor et al., (2017), la actividad de PEPC en las hojas de *Amaranthus hypochondriacus* aumentó cuando se incubó con ABA bajo una concentración de 20 μ M. Esta respuesta se puede deber a la capacidad de ABA para modular la actividad de PEPC en plantas C4, especialmente cuando se encuentran bajo estrés hídrico, que es cuando

justamente ABA se acumula. Por otro lado, se sabe que la PEPC es más activa a pH alcalino, por ende, un aumento en el pH citosólico puede provocar la activación de PEPC, así como también ácidos débiles como el ácido butírico puede disminuir el pH celular. En este sentido, se vio que una disminución del pH generada por el ácido butírico disminuyó la actividad de PEPC y redujo el grado de estimulación por parte de ABA. Es decir que, la modulación de PEPC por parte de ABA dependerá de qué tan alcalino esté el espacio celular, al menos, en plantas con un metabolismo C4 (Aloor, Avasthi, & Raghavendra, 2017).

En condiciones de déficit hídrico, el ácido abscísico, además de controlar el cierre de los estomas, también es capaz de inducir la expresión de genes necesarios para proteger a las células y la planta del daño causado por el estrés, cuando este es más severo y prolongado (Bob B. Buchanan, 2015; Cardoso et al., 2020; Seo & Koshiba, 2011; Wang, Huang, & Xu, 2003). Como, por ejemplo: las proteínas abundantes en la embriogénesis tardía (LEA, por sus siglas en inglés), que originalmente se descubrieron en semillas de algodón (*Gossypium hirsutum*) y que permiten a la semilla soportar la desecación durante la fase de maduración (Dure III, 1989; Saucedo et al., 2017). Sin embargo, la acumulación de estas proteínas no solo está relacionada con el desarrollo de tolerancia a la desecación en semillas. En la mayoría de los casos la expresión génica de las proteínas LEA está regulada transcripcionalmente y responde a los aumentos de ABA, así, se inducen en los tejidos de las plantas en respuesta al estrés hídrico (Razi & Muneer, 2021), al frío, estrés osmótico o aplicación exógena de ABA (Bob B. Buchanan, 2015), así como también se inducen en otros organismos como eubacterias, rotíferos, nemátodos y artrópodos (Saucedo et al., 2017).

Las proteínas LEA están presentes en el citosol, mitocondrias, cloroplastos, retículo endoplásmico y núcleo. Su acción específica podría depender de su

ubicación intracelular, pero de todos modos su acción biológica estaría relacionada con la estabilización de macromoléculas y membranas durante la sequía, es decir, posee actividad de tipo chaperona y el transporte de proteínas en condiciones estresantes (Saucedo et al., 2017; Wang et al., 2003). De hecho, se ha visto que, en cereales, como el trigo y el arroz, que sobre-expresan el gen *HVA1* (un gen que codifica una proteína LEA) son más tolerantes a la sequía y al estrés salino (Sivamani et al., 2000).

Saucedo et al., (2017) identificaron una proteína LEA en *Amaranthus cruentus* que denominaron AcLEA, la clonaron en un vector de expresión, de ello purificaron y caracterizaron la proteína recombinante. AcLEA recombinante es una proteína que intrínsecamente tiende a adoptar una estructura helicoidal y tiene una acción protectora contra la desecación, estrés osmótico y oxidativo. Además, se vio que, en respuesta a estrés salino, AcLEA se acumula en hojas y tallos, lo que destaca la importancia de esta proteína en la protección del estrés hídrico en *Amaranthus cruentus*.

Actualmente se sugiere que las proteínas LEA actúan como estabilizadores y protectores de membranas, antioxidantes y transportadores de iones, como el Hierro (Fe) (Razi & Muneer, 2021). (Krüger, Berkowitz, Stephan, & Hell, 2002), determinaron que en *Ricinus communis* la mayor parte del Fe en el floema se une a una proteína de 17 kD llamada proteína de transporte de hierro (ITP), que fue identificada como la primera proteína de unión a micronutrientes que permite el transporte a larga distancia a través del floema de la planta, y que a su vez corresponde a la primera de la familia LEA que tiene tal función. Ya que ITP es una dehidrina (DHN), perteneciente al grupo 2 de las proteínas LEA, que tiene una mayor afinidad de unión por el Fe^{3+} que por el Fe^{2+} (Bob B. Buchanan 2015).

Algo interesante de destacar es que la sobre-expresión de una única proteína de tipo LEA no es 100% suficiente para conferir tolerancia a la planta, en cambio la expresión múltiple de proteínas de tipo LEA que son activadas por sus factores de transcripción se correlaciona positivamente con la tolerancia al estrés. Esto sugiere que las distintas proteínas de la familia LEA podrían funcionar sinérgicamente entre sí (Wang et al., 2003).

5.1. Moléculas osmoprotectoras y antioxidantes

Bajo estrés abiótico, las plantas acumulan moléculas antioxidantes y osmoprotectoras, también denominadas solutos compatibles, que se encargan de mantener el equilibrio osmótico y que son “compatibles” con el mecanismo celular ya que no interfieren en las funciones metabólicas. Estas sustancias como azúcares, polioles o prolina, ayudan a sobrellevar y mejorar la tolerancia al estrés (Yaqoob et al., 2019).

La prolina es un aminoácido que desempeña un papel vital y cuya acumulación se ve inducida en respuesta a factores tanto bióticos como abióticos (Ashraf & Foolad, 2007). Sus funciones son: facilitar la transducción de señales, participar en la síntesis de metabolitos primarios y en el transporte de estos, estabilizar proteínas y membranas celulares, y también puede actuar como desintoxicador de radicales libres. Además, se cree que ayuda en la fosforilación oxidativa en las mitocondrias y desencadena la síntesis de ATP como un mecanismo de recuperación del estrés. Por otra parte, se ha visto que la aplicación exógena de prolina aumenta la resistencia al estrés en las plantas, como en el maíz, trigo y tabaco y, de hecho, en estas condiciones, la prolina constituye aproximadamente al 80% de los aminoácidos libres en la planta (Yaqoob et al., 2019).

(Elewa, Sadak, & Saad, 2017), realizaron un tratamiento con prolina en *Chenopodium quinoa*, donde determinaron que cuando la planta era sometida a estrés por sequía los contenidos de clorofila *a*, *b*, clorofila total y carotenoides disminuyeron en un 7,53%, 28%, 37,5% y 17,96% respectivamente, en comparación con el control. Sin embargo, el tratamiento con prolina aumentó los niveles de los pigmentos cuando se aplicó una concentración de 25mM.

Yaqoob et al., (2019) indujeron estrés por frío en *Chenopodium quinoa*. Similarmente, obtuvieron una reducción de la clorofila *a* y *b*, clorofila total y carotenoides. Aquí la aplicación exógena de prolina mejoró significativamente todos estos pigmentos, lo cual generaba una sinergia con el nivel endógeno de prolina inducido por el estrés. Este hallazgo ya había sido estudiado por (Abd Elhamid, Sadak, & Tawfik, 2016), quienes encontraron que el nivel endógeno de prolina mejoraba con la aplicación externa de este aminoácido amplificando sus funciones y mejorando la tolerancia de *Phaseolus vulgaris* bajo estrés salino.

También, Yaqoob et al., (2019) determinaron que el tratamiento con prolina mejoraba las actividades de CAT (catalasa), POD (peroxidasa) y SOD (superóxido dismutasa), y reducía el contenido de peróxido de hidrógeno y malondialdehído (MDA) lo que podría explicar por qué está involucrada en el sistema de defensa oxidativa.

En el caso de amaranto, y más específicamente en *Amaranthus hypochondriacus* se determinó que el estrés por sequía condujo a un aumento de cuatro veces el contenido de prolina libre, mientras que luego de establecer el riego, los niveles de prolina disminuyeron hasta la concentración del control. Por otro lado, el contenido total de azúcar soluble aumentó en un 91%. En este estudio también se vio que la enzima SOD Cu/Zn aumentó en condiciones de sequía, lo que indica que esta enzima podría contribuir en la tolerancia de las plantas no solo a estrés por sequía, sino también a varios tipos de estrés

abiótico, trabajando en el proceso de desintoxicación de diferentes especies reactivas del oxígeno (Huerta-Ocampo et al., 2011).

La tolerancia de las plantas al estrés puede manifestarse gracias a la capacidad que se genera al resistir aquel estrés, y que puede ser inducido por diversos componentes, que incluyen: factores de transcripción, expresión de genes y proteínas.

5.2. PSII en *Chenopodium quinoa* y *Amaranthus* spp

En *Chenopodium quinoa* Willd el PSII de la quinoa es capaz de recuperarse casi en su totalidad y de soportar condiciones de estrés, como sequía, muy severos; lo que podría estar asociado con la capacidad que tiene este cultivo de preservar la actividad fotoquímica funcional (Manaa et al., 2021).

De manera análoga, en las especies *Amaranthus hybridus* y *A. hypochondriacus* se ha visto que durante estrés por sequía efectivamente se produjeron cambios en la función del PSII, sin embargo, los datos indicaron que ambas especies, en particular *A. hybridus*, era capaz de adaptarse de manera eficiente, lo que resultó en una pérdida de función bastante baja. Esto evidenció también, que la respuesta del PSII difiere entre esas especies lo que podría indicar que existen diferencias, ya sean bioquímicas o anatómicas que le confieren una mayor tolerancia a la sequía (Slabbert & Krüger, 2011).

5.3. Factores de transcripción y expresión de genes relacionados al estrés por sequía

A lo largo de los años ha surgido el interés por estudiar factores de transcripción y la inducción de genes que aporten tolerancia a las plantas frente al estrés abiótico, como la sequía, esto con el fin de poder proporcionar mejoras biotecnológicas considerando un clima cambiante.

Respecto a eso, WRKY es un factor de transcripción que justamente desempeña un factor en la regulación en las respuestas al estrés hídrico, regulando positiva o negativamente la expresión de otros genes para aumentar la tolerancia al estrés (Yue et al., 2016). Estos genes se han identificado en diversas especies y en *Chenopodium quinoa* se han encontrado 92 genes de WRKY, los cuales se localizaron en su mayoría en el núcleo (86 genes *CqWRKY*), en el espacio extracelular, en el peroxisoma, en el cloroplasto y en el citoplasma (Yue et al., 2019).

Recientemente, el genoma de amaranto tiene reportados 60 genes de WRKY, y la inducción de dos secuencias que representan isogrupos distintos (isotig 08051 y 15239) que codifican proteínas WRKY en el transcriptoma de amaranto de grano —*Amaranthus hypochondriacus*— mostró que el isotig 08051 es aproximadamente un 67% similar a *Chenopodium quinoa*, mientras que el isotig 15239 es similar en aproximadamente un 88% (Palmeros-Suárez, Casarrubias-Castillo, & Massange-Sánchez, 2021).

Un estudio realizado por Huerta-Ocampo et al., (2011), reportó que *Amaranthus hypochondriacus* expresa dos factores de transcripción denominados como DOF y MIF cuando es sometido a estrés por sequía. Estos factores de transcripción también están relacionados con procesos biológicos exclusivos de las plantas. En el caso de DOF, este tiene como función la expresión génica implicada en la fotosíntesis —al menos en el maíz—, sobre la respuesta al

estrés o fitohormonas (Yanagisawa, 2000). Sin embargo, (Cavalar, Phlippen, Kreuzaler, & Peterhänsel, 2007) sugirieron que DOF1 no era tan necesario para el control de la expresión de genes ya que solo se requiere bajo ciertas condiciones ambientales *in vivo*. Nuevamente, (Yanagisawa, Akiyama, Kisaka, Uchimiya, & Miwa, 2004), informaron que las plantas transgénicas DOF1 mostraban un crecimiento mejorado en condiciones de bajo contenido de Nitrógeno. Por otra parte, MIF (dedo de zinc) es una proteína que está involucrada en la integración de múltiples señales de hormonas. Se ha visto que en *Arabidopsis* MIF1 genera muchos cambios, como enanismo, longevidad extrema, hojas de color verde oscuro, morfología floral alterada y crecimiento reducido de raíces (Hu & Ma, 2006). Aunque, sus funciones específicas aún no están muy claras.

De manera análoga las proteínas de shock térmico (HSP) poseen funciones importantes en respuesta al estrés biótico y abiótico en las plantas, bacterias y animales. Estas proteínas son inducidas por estrés con el fin de proteger a los organismos de consecuencias severas. Se ha visto en las últimas décadas que funcionan como chaperonas moleculares evitando la acumulación de otras proteínas y participando en reestablecer el plegamiento de proteínas durante condiciones de estrés, pero incluso se ha visto que cumple estas funciones en células no estresadas (Liu et al., 2018).

Las proteínas HSP se diferencian según su peso molecular, existiendo así los grupos de proteínas HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 y sHSP. Dentro de ellas, la familia de genes de shock térmico de 70kDa (HSP70s) se han estudiado en varias plantas ya que están involucrados en la tolerancia a la sequía, y en eucariotas se encuentran en distintos compartimentos celulares, donde se incluye el citoplasma, los plástidos, mitocondria y el retículo endoplásmico (RE), lo que demuestra y confirma la importancia de sus funciones en distintas partes de la célula (De Maio & Vazquez, 2013).

Liu et al., (2018) identificaron 16 genes de HSP70s en *Chenopodium quinoa*, los cuales se clasificaron en ocho pares parálogos *CqHSP70s* y que exhibían una disposición de motivos similares en sus estructuras proteicas. Además, se pudo predecir que 4 genes (*AUR62011754*, *AUR62024598*, *AUR62000777* y *AUR62005192*) se encontrarían en el RE; que *AUR62040144*, *AUR62040617*, *AUR62004581* y *AUR62023527* se localizarían en los plastidios; y que solo *AUR62032879* se encontraría en las mitocondrias.

Por otra parte, en este estudio también se analizó el rol de *CqHSP70s* en respuesta al estrés por sequía, acá 6 genes disminuyeron su expresión al inicio del tratamiento de estrés por sequía, pero luego de 12 horas estos aumentaron hasta su valor inicial. Mientras que la expresión del gen *AUR62024018* se mantuvo elevada durante todo el tratamiento y *AUR62032879* fue altamente inducida por la sequía y disminuyó su expresión después de 6 horas. Así, en general la expresión de los genes *CqHSP70s* se alteró en diferentes etapas del estrés, lo que se puede deber a su localización celular y las diversas funciones que debe cumplir en los distintos compartimentos.

Sin duda que la expresión de diversos genes o factores de transcripción aportan de manera específica a la tolerancia frente a la escasez de agua y sequía, pero bajo el contexto del cambio climático y las consecuencias que este trae a la producción agrícola, también resulta muy necesario buscar técnicas para mejorar la eficiencia en el uso del agua, siendo este un parámetro de estudio fundamental bajo este escenario y que se puede estudiar a distintos niveles, además permite contribuir al rendimiento de las plantas y cultivos con el fin de ayudar a una mayor supervivencia, producción y tolerancia.

6. MEJORAS EN LA EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA

Entre las alternativas para una mejora de este parámetro se proponen estrategias que pueden ser de tipo agronómicas o genéticas, como: el riego adecuado, el tratamiento y manejo de nutrientes en la planta (manejo de fertilidad del suelo), así como también el control de malezas que utilizan una cantidad considerable de agua (Farooq et al., 2019) o la utilización de herramientas biotecnológicas que permitan generar especies genotípicamente tolerantes a la sequía (Cardoso et al., 2020).

Dentro de las alternativas agronómicas se incluye el manejo de la fertilidad del suelo, el cual constituiría a una buena herramienta para aumentar la EUA. Para ello, el suelo se puede suplementar con cantidades equilibradas de macro o micronutrientes. Entre ellos, se ha visto que el potasio (K^+) mejora los efectos de la sequía y de la EUA, tanto en condiciones normales, como bajo estrés hídrico (Farooq et al., 2019).

(AlKhader & Abu Rayyan, 2013), demostraron que en *Lactuca sativa* L. (lechuga) se generaba un incremento significativo en la biomasa y en la EUA cuando habían aplicado niveles más altos de potasio. Análogamente, (Martineau et al., 2017) visualizaron que la nutrición con potasio tuvo buenos resultados en el aumento de la EUA y en la tolerancia del maíz a la sequía. Por último, (Turcios, Papenbrock, & Tränkner, 2021), realizaron un estudio para determinar el efecto que producía diferentes concentraciones de potasio (0,5, 2 y 6 mM) en la quinoa bajo estrés por salinidad aplicada exógenamente, para ello se aplicaron diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Aquí se determinó que las plantas cultivadas con potasio 6 mM y NaCl 100mM alcanzaron mayor biomasa, con un área foliar alta y mayor EUA, ya que —al igual que con el maíz— el aumento del área foliar no aumentó la transpiración (E). Mientras que las plantas cultivadas con potasio 0,5 mM y sin sal resultaron

en una menor biomasa. La concentración de NaCl fue decisiva para E, ya que E disminuyó significativamente al aumentar NaCl, esto debido a un desbalance hídrico, porque a mayor concentración de sal la planta restringe su transpiración debido a la baja absorción de agua de la rizosfera y a su vez disminuye la absorción de nutrientes, por ende, se restringe su crecimiento. Es así como las plantas eran significativamente más pequeñas cuando aumentaba la concentración de sal y más altas cuando no fueron expuestas a la sal. En consecuencia, lo que desencadenó el aumento de biomasa y a su vez un aumento de la EUA fue la aplicación de potasio en condiciones salinas, lo que se puede explicar ya que el potasio juega un rol fundamental en el cierre estomático y a su vez como macronutriente esencial en la planta.

Dentro de las alternativas biotecnológicas, ABA representaría una gran estrategia para sobrellevar estos cambios que se generan en la planta cuando está sometida a estrés hídrico. Bajo este contexto, estudios recientes han determinado que la modulación de la señalización de ABA se puede lograr de manera eficiente a través de plantas que han sido modificadas genéticamente con una sobreexpresión de receptores de ABA (Mega et al., 2019), así como también a través de intervención química con agonistas de ABA (Okamoto et al., 2013; Park et al., 2015). Entonces, en primer lugar, la sobreexpresión de los receptores de ABA: PYL / RCAR inducen a una mayor sensibilidad de la planta a ABA, lo que conduce a una EUAi mejorada y a una resistencia a la sequía (Mega et al., 2019). Sin embargo, algunos estudios sobre plantas que sobreexpresaban receptores PYL mostraron un efecto opuesto sobre el crecimiento y adaptación al estrés, lo cual podría deberse a la elección del receptor específico (Cardoso et al., 2020). Ya que de hecho, la sobreexpresión de receptores específicos como PYL12 / RCAR6 y PYL4 / RCAR10 en *Arabidopsis* mostró un equilibrio en una mejora en la EUA con efectos insignificantes sobre el crecimiento (Yang et al., 2016), e incluso se ha estudiado en el trigo y el arroz transgénicos, en donde la sobreexpresión de receptores específicos de PYL

han generado una reducción de la transpiración y un aumento de la actividad fotosintética en comparación con el *wild-type*, mostrando una mejora en la EUAi (Mega et al., 2019; Cardoso et al., 2020).

La otra alternativa, considerada más rápida y manejable, es a través del uso de agonistas de ABA para mejorar la EUA (Cao et al., 2013), la cual se basa en pequeñas moléculas sintéticas que se unen a los receptores de ABA y por consiguiente activan su señalización (Rodriguez & Lozano-Juste, 2015). Como consecuencia se han desarrollado varios agonistas de ABA durante los últimos años, siendo la “quinabactin” una sustancia que induce respuestas de ABA tanto en semillas como en tejidos vegetativos, así la aplicación de quinabactin en las plantas resultó en una mejora en la eficiencia en el uso del agua en estrés por sequía (Okamoto et al., 2013). Por último, el agonista “B2” demostró mejorar la tolerancia a la sequía en el trigo al aumentar la biomasa de las raíces y prevenir la deshidratación de las hojas, así como amplificar las respuestas antioxidantes y mejorar las funciones fotosintéticas (Zhou et al., 2019), lo cual evidentemente también aumenta la EUA.

Por otro lado, el uso de tecnología simbiótica también podría ser una opción apropiada para mitigar los efectos drásticos de la sequía bajo el contexto del cambio climático y que permitiría mejorar la tolerancia a la sequía (Aslam et al., 2020).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés), son bacterias aisladas principalmente de la rizosfera que promueven el crecimiento y el rendimiento de las plantas mediante la activación de varios procesos metabólicos (Aslam et al., 2020; Lin, Watts, Kloepper, & Torbert, 2018). Las PGPR producen muchas fitohormonas, como: auxinas, citoquininas, giberelinas, entre otras, así como también son capaces de aumentar la resistencia de las plantas a las altas temperaturas, la sequía y a las altas

concentraciones de sal (Maheshwari et al., 2012). Durante episodios de sequía, las plantas producen una cantidad excesiva de etileno que inhibe el crecimiento del cultivo. Por ende, la inoculación de plantas con PGPR es capaz de cambiar la cantidad en exceso del precursor de etileno: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) por alfa-cetobutirato y amonio, que promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas durante condiciones de estrés por sequía (Prigent-Combaret et al., 2008). Además, esta inoculación puede tener efectos considerables tanto a nivel fisiológico como molecular, lo que sugiere la posibilidad de que la biota del suelo pueda estimular a las plantas a ser más eficientes en la recuperación de nutrientes del suelo y más eficientes en el uso del agua (Pii et al., 2015). De hecho, Aslam et al., (2020) realizaron un estudio en el que inocularon semillas de *Chenopodium quinoa* con tres cepas de PGPR (*B. licheniformis* RT7YC, *P. fluorescens* CHA0 y *A. brasilense* CNPSO2084) a las que luego se les aplicó un tratamiento de estrés hídrico en las etapas de crecimiento de hojas, floración y llenado de grano. Para la inoculación las semillas se sumergieron en una suspensión bacteriana con $10^8 - 10^9$ CFU/mL durante dos horas. De este estudio se pudo evidenciar que la inoculación con PGPR aumentó significativamente la EUA de la quinoa tanto en plantas estresadas por sequía como no estresadas, mostrando un valor máximo para la inoculación con *A. brasilense* y un valor mínimo para el tratamiento sin inocular. Probablemente debido a la mayor disponibilidad y translocación de nutrientes del suelo a las partes aéreas.

Por otra parte, en la última década se ha estado estudiando cómo inducir una vía C4 en una planta con una vía C3, lo que requiere de una manipulación de rasgos tanto anatómicos como bioquímicos. Para ello, un grupo de científicos de diversas universidades y centros de investigación del mundo están realizando investigaciones conjuntas para inducir una ruta fotosintética C4 en el arroz, cultivo que tiene un metabolismo C3. Esto generaría una mayor eficiencia fotosintética, mayor eficiencia en el uso del agua y, por consiguiente, mayor

rendimiento del arroz (Ermakova et al., 2021). Sin embargo, aún falta mucho para obtener los resultados esperados, ya que aún no se conoce con total claridad cómo se regula el desarrollo de la anatomía Kranz en una planta C4, y, además el estudio del diseño del conjunto de genes necesarios que codifican las enzimas de la vía C4 aún no están claros, ya que éstos deben activarse en el momento correcto, al nivel correcto y en la célula correcta. No obstante, esto representaría una gran alternativa para mejorar la eficiencia en el uso del agua (Sciences., (s. f.)).

Sin lugar a duda que el estudio y mejoramiento de la EUA proporciona una gran herramienta para aumentar la productividad de los cultivos en condiciones de baja disponibilidad hídrica, especialmente en cultivos como quinoa y amaranto que han demostrado ser un alimento capaz de sobrellevar y mejorar la seguridad alimentaria mundial en un clima cambiante. Con esto no solo se asegura la plantación de estas especies en regiones semiáridas del mundo, sino que también se hace un cultivo y alimento más asequible tanto física como económicamente a la población mundial.

CONCLUSIONES Y PROYECCIONES

El agua y el uso del agua son factores cruciales para la supervivencia de la vida vegetal, especialmente bajo el contexto del cambio global, donde los recursos de agua dulce están en decadencia y sin duda generarán un impacto en la producción de los cultivos y en la seguridad alimentaria. Por ello, la mejora de la EUA en los cultivos se prevé como un buen medio para controlar y ahorrar agua en la agricultura, y, de hecho, ha demostrado ser un parámetro objetivo en diversos estudios que tienen como fin el sobrellevar o contrarrestar las consecuencias que podría generar esta escasez de agua en nuestra vida diaria. En este contexto, las mejoras en la EUA se pueden dividir en (i) alternativas agronómicas, como: el riego adecuado, manejo de la fertilidad del suelo, ajuste del calendario de siembra para la especie de interés, manejo de la evapotranspiración; y (ii) en alternativas biotecnológicas y/o genéticas, como: la inducción de la sobre-expresión de receptores de proteínas u hormonas involucradas en la respuesta a la tolerancia a la sequía (por ejemplo: la sobreexpresión de receptores de ABA —ver sección 6—), así como la intervención química con agonistas que induzcan una mayor EUA, el uso de tecnología simbiótica: donde mediante la utilización de bacterias, aisladas principalmente de la rizosfera, se induce una mayor resistencia de las plantas a diferentes tipos de estrés abiótico. Como también la inducción de una vía fotosintética C4 para generar cultivos más eficientes y con mayor rendimiento.

Las especies *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus* spp (*A. cruentus*, *A. hypocondriacus* y *A. caudatus*), han demostrado a través de diversas investigaciones que poseen mecanismos similares para evadir y tolerar el estrés hídrico, ya sea a través de su capacidad intrínseca de generar un sistema radicular profundo, como de generar una disminución del área foliar. Además, desde un punto de vista bioquímico, la biosíntesis de hormonas (como

ABA) se ve favorecida en respuesta a factores cambiantes y posee un rol significativo en la pérdida de agua a través del estoma, forzando un cierre de estos para evitar una mayor pérdida. ABA puede inducir su efecto: (i) activando los canales de calcio de la membrana plasmática que, luego de una serie de señales, produce la salida de potasio, de agua y genera el cierre estomático; (ii) gracias a la unión a un receptor que inhibe la actividad de PP2C, activando la proteína OST1 y provocando el cierre del estoma, siendo éste un mecanismo independiente de calcio (ver sección 1.1). Por otra parte, el ABA es capaz de inducir la expresión de genes que permiten tolerar el estrés hídrico y generar un traspaso evolutivo a las próximas generaciones permitiendo una mayor adaptación a un clima cambiante. En este sentido, ABA participa en la regulación transcripcional de las proteínas LEA, las cuales poseen actividad de tipo chaperona actuando como estabilizadores de membrana y transportadores de iones. Asimismo, se ha reportado que ambas especies poseen factores de transcripción, como WRKY, que regulan la expresión de genes para aumentar la tolerancia al estrés abiótico.

Sin embargo, a pesar de las similitudes en sus respuestas, la característica bioquímica por excelencia que le confiere una mayor eficiencia en el uso del agua de manera intrínseca a la especie *Amaranthus* spp, por sobre *Chenopodium quinoa* Willd, es su metabolismo fotosintético de tipo C₄, donde exhibe una alta tasa fotosintética, y al mismo tiempo, un gran ajuste de la conductancia estomática en comparación a un cultivo C₃. Su metabolismo modificado permite evadir la fotorrespiración, y su anatomía Kranz permite (i) aislar el ingreso del CO₂ a la célula del mesófilo, de la asimilación de éste en el ciclo de Calvin-Benson-Bassham, y (ii) disminuir la pérdida de agua por transpiración, a nivel de la hoja. Esto conlleva a una acumulación de CO₂ intracelular y por ende una eficiencia en la apertura del estoma, ya que no se requiere de una apertura constante para alcanzar elevados niveles de CO₂, y por consiguiente se pierde menos agua. Sumado a esto, además, posee una

buena capacidad de recuperación del PSII, mayor susceptibilidad a la respuesta de ABA, ya que esta hormona es capaz de estimular la actividad de PEPC en especies C4 cuando se encuentran bajo estrés hídrico (lo que le permite a la planta mantener su eficiencia fotosintética bajo esta condición), y una gran aclimatación y supervivencia a episodios de sequía severa.

No obstante, aún faltan estudios experimentales que sustenten esta información, así como también, se requiere una comprensión más profunda de los mecanismos de tolerancia a la sequía y las estrategias empleadas por diferentes genotipos de amaranto para sobrellevar el estrés hídrico, ya que se ha visto una diferencia entre ellos. Además, sería interesante poder dilucidar esto en comparación con la quinoa, ya que hasta el momento no se han encontrado estudios que hagan una comparación de las diferencias y semejanzas en la tolerancia y la EUA en ambas especies bajo estrés por sequía. Es así como este trabajo abre nuevas preguntas futuras como: considerando diferencias en el metabolismo de ambas especies, ¿el rol del ABA y la señal que genera, es igual de importante en quinoa y en amaranto, o habrá preferencia diferencial especie específico entre los mecanismos dependientes y no dependientes de ABA? Por otro lado, ¿cuáles son los genes y redes reguladoras de genes involucrados tanto en la tolerancia al estrés hídrico como en los mecanismos detrás de una mayor EUA en *C. quinoa* o en *Amaranthus*? Además, considerando el hallazgo de una diferencia en la tolerancia al estrés abiótico en genotipos de la misma especie, ¿cuáles serán entonces las diferencias a nivel molecular, enzimático, genotípico, hormonal y adaptativa que le confieren mayor tolerancia a un genotipo por sobre otro de una misma especie? Luego, teniendo estos datos, ¿existirán diferencias en la adquisición y uso de nutrientes en los genotipos mejor adaptados a la sequía versus los más sensibles al estrés hídrico? Y finalmente, considerando el alto consumo de otros cultivos importantes también en nuestra alimentación diaria, se hace indispensable preguntarse: ¿Qué estrategias biotecnológicas basadas en el

conocimiento bioquímico de Quinoa y Amaranto serán las más adecuadas para mejorar la eficiencia en el uso del agua, la tolerancia de los cultivos a la sequía, y maximizar la calidad nutricional en de otros cereales y pseudocereales? Para poder desarrollar y responder éstas y otras preguntas, se sugiere evaluar en profundidad ambas especies en un estudio integral que incluya el estudio de su fisiología, biología molecular, genómica, transcriptómica, metabolómica y nutricional. Con el fin de poder contribuir a la máxima comprensión de todas las características de quinoa y amaranto que le confieren tales particularidades, y así, aprovechar al máximo todo su potencial en el contexto del cambio climático y sus beneficios en nuestra alimentación diaria.

REFERENCIAS

- Abd Elhamid, E. M., Sadak, M. S., & Tawfik, M. M. (2016). Physiological response of Fenugreek plant to the application of proline under different water regimes. *RESEARCH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES*, 7(3), 580-594.
- Abd Elhamid, E. M., Sadak, M. S., & Tawfik, M. (2016). Physiological response of Fenugreek plant to the application of proline under different water regimes. *RESEARCH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES*, 7(3), 580-594.
- Acharya, B. R., Jeon, B. W., Zhang, W., & Assmann, S. M. (2013). Open Stomata 1 (OST 1) is limiting in abscisic acid responses of Arabidopsis guard cells. *New Phytologist*, 200(4), 1049-1063.
- Alandia, G., Jacobsen, S. E., Kyvsgaard, N., Condori, B., & Liu, F. (2016). Nitrogen sustains seed yield of quinoa under intermediate drought. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(4), 281-291.
- AlKhader, A. M., & Abu Rayyan, A. M. (2013). Improving water use efficiency of lettuce (*Lactuca sativa* L.) using phosphorous fertilizers. *SpringerPlus*, 2(1), 1-8.
- Aloor, B. P., Avasthi, U. K., & Raghavendra, A. S. (2017). Stimulation by abscisic acid of the activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in leaf disks of *Amaranthus hypochondriacus* L., C4 plant: role of pH and protein levels. *Protoplasma*, 254(5), 1973-1981.
- Andini, R., Sulaiman, M. I., Kadapi, M., & Ohsawa, R. (2021). Polyploidy and Hybridization for Amaranth Crop Improvement. In *The Amaranth Genome* (pp. 151-166): Springer.
- Aranda, I., Forner, A., Cuesta, B., & Valladares, F. (2012). Species-specific water use by forest tree species: From the tree to the stand. *Agricultural Water Management*, 114, 67-77.
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.

- Aslam, Z., Bashir, S., Ahmed, N., Bellitürk, K., Qazi, M. A., & ULLAH, R. (2020). Effect of different levels of molybdenum and rhizobium phaseoli in rice-mung bean cropping system. *Pak. J. Bot*, 52(6), 2211-2216.
- Azcón, J., & Talón, M. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal* (Vol. 2da Edición): Ediciones Universidad de Barcelona.
- Balmant, K. M., Zhang, T., & Chen, S. (2016). Protein phosphorylation and redox modification in stomatal guard cells. *Frontiers in physiology*, 7, 26.
- Barbour, M. M. (2017). Understanding regulation of leaf internal carbon and water transport using online stable isotope techniques. *New Phytologist*, 213(1), 83-88.
- Barbour, M. M., Evans, J. R., Simonin, K. A., & Von Caemmerer, S. (2016). Online CO₂ and H₂O oxygen isotope fractionation allows estimation of mesophyll conductance in C₄ plants, and reveals that mesophyll conductance decreases as leaves age in both C₄ and C₃ plants. *New Phytologist*, 210(3), 875-889.
- Basantes-Morales, E. R., Alconada, M. M., & Pantoja, J. L. (2019). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Production in the Andean Region: Challenges and Potentials. *J. Exp. Agric. Int*, 36, 1-18.
- Beer, C., Ciais, P., Reichstein, M., Baldocchi, D., Law, B., Papale, D., . . . Frank, D. (2009). Temporal and among-site variability of inherent water use efficiency at the ecosystem level. *Global biogeochemical cycles*, 23(2).
- Bhuyan, S., & Mukherjee, S. . ((s. f.)). Photorespiration: Definition, Process, and Mechanism. *Science Facts*. Recuperado, febrero de 2022, de <https://www.sciencefacts.net/photorespiration.html>.
- Bloom, A. J., & Kameritsch, P. (2017). Relative association of Rubisco with manganese and magnesium as a regulatory mechanism in plants. *Physiologia Plantarum*, 161(4), 545-559.
- Bloom, A. J., & Lancaster, K. M. (2018). Manganese binding to Rubisco could drive a photorespiratory pathway that increases the energy efficiency of photosynthesis. *Nature plants*, 4(7), 414-422.
- Bob B. Buchanan, W. G. a. R. L. J. (2015). *BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS*. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, PO19 8SQ, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

- Brown, W. V. (1975). Variations in anatomy, associations, and origins of Kranz tissue. *American Journal of Botany*, 62(4), 395-402.
- Busch, F. A. (2020). Photorespiration in the context of Rubisco biochemistry, CO₂ diffusion and metabolism. *The Plant Journal*, 101(4), 919-939.
- Canvin, D. (1979). Photorespiration: comparison between C₃ and C₄ plants. In *Photosynthesis II* (pp. 368-396): Springer.
- Cao, M., Liu, X., Zhang, Y., Xue, X., Zhou, X. E., Melcher, K., . . . Zhao, Y. (2013). An ABA-mimicking ligand that reduces water loss and promotes drought resistance in plants. *Cell research*, 23(8), 1043-1054.
- Cardoso, A. A., Gori, A., Da-Silva, C. J., & Brunetti, C. (2020). Absciscic acid biosynthesis and signaling in plants: key targets to improve water use efficiency and drought tolerance. *Applied Sciences*, 10(18), 6322.
- Cataldo, P., Sellami, M. H., & Lavini, A. (2021). Yield and quality of *A. hypochondriacus* grain amaranth under drought and salinity at various phenological stages in southern Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Cavalar, M., Phlippen, Y., Kreuzaler, F., & Peterhänsel, C. (2007). A drastic reduction in DOF1 transcript levels does not affect C₄-specific gene expression in maize. *Journal of plant physiology*, 164(12), 1665-1674.
- Center, U. d. S. P. F. R. (Producer). (October 18, 2021). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.
- Claeys, H., & Inzé, D. (2013). The agony of choice: how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. *Plant physiology*, 162(4), 1768-1779.
- Cohen, I., Zandalinas, S. I., Huck, C., Fritsch, F. B., & Mittler, R. (2021). Meta-analysis of drought and heat stress combination impact on crop yield and yield components. *Physiologia Plantarum*, 171(1), 66-76.
- Coupel-Ledru, A., Tyerman, S. D., Masclef, D., Lebon, E., Christophe, A., Edwards, E. J., & Simonneau, T. (2017). Absciscic acid down-regulates hydraulic conductance of grapevine leaves in isohydric genotypes only. *Plant physiology*, 175(3), 1121-1134.
- Cousins, A. B., Mullendore, D. L., & Sonawane, B. V. (2020). Recent developments in mesophyll conductance in C₃, C₄, and crassulacean acid metabolism plants. *The Plant Journal*, 101(4), 816-830.

- De Maio, A., & Vazquez, D. (2013). Extracellular heat shock proteins: a new location, a new function. *Shock (Augusta, Ga.)*, 40(4), 239.
- Deeba, F., Pandey, A. K., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y., . . . Pandey, V. (2012). Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53, 6-18.
- Dure III, L. (1989). Characteristics of the storage proteins of cotton. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(3), 356-359.
- Elewa, T. A., Sadak, M. S., & Saad, A. M. (2017). Proline treatment improves physiological responses in quinoa plants under drought stress. *Bioscience Research*, 14(1), 21-33.
- Ermakova, M., Arrivault, S., Giuliani, R., Danila, F., Alonso-Cantabrana, H., Vlad, D., . . . Borghi, G. L. (2021). Installation of C4 photosynthetic pathway enzymes in rice using a single construct. *Plant biotechnology journal*, 19(3), 575-588.
- Escudero, N., De Arellano, M., Luco, J., Giménez, M., & Mucciarelli, S. (2004). Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(1), 15-21.
- Evans, J. R., Kaldenhoff, R., Genty, B., & Terashima, I. (2009). Resistances along the CO₂ diffusion pathway inside leaves. *Journal of experimental botany*, 60(8), 2235-2248.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., . . . Saud, S. (2017). Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Frontiers in plant science*, 8, 1147.
- FAO. (2019). Challenges and Opportunities in a Global World. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. (2009). A. 2009. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for sustainable development*, 29(1), 185-212.
- Farquhar, G. D., & Sharkey, T. D. (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual review of plant physiology*, 33(1), 317-345.
- Feria, A.-B., Alvarez, R., Cochereau, L., Vidal, J., García-Mauriño, S., & Echevarría, C. (2008). Regulation of phospho enol pyruvate carboxylase

phosphorylation by metabolites and abscisic acid during the development and germination of barley seeds. *Plant physiology*, 148(2), 761-774.

- Fischer, S., Wilckens, R., Jara, J., Aranda, M., Valdivia, W., Bustamante, L., . . . Obal, I. (2017). Protein and antioxidant composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) sprout from seeds submitted to water stress, salinity and light conditions. *Industrial Crops and Products*, 107, 558-564.
- Flexas, J., Díaz-Espejo, A., Conesa, M., Coopman, R., Douthe, C., Gago, J., . . . Ribas-Carbo, M. (2016). Mesophyll conductance to CO₂ and Rubisco as targets for improving intrinsic water use efficiency in C₃ plants. *Plant, cell & environment*, 39(5), 965-982.
- Geiger, D., Maierhofer, T., Al-Rasheid, K. A., Scherzer, S., Mumm, P., Liese, A., . . . Grill, E. (2011). Stomatal closure by fast abscisic acid signaling is mediated by the guard cell anion channel SLAH3 and the receptor RCAR1. *Science signaling*, 4(173), ra32-ra32.
- Gimeno, T. E., Company, C. E., Drake, J. E., Barton, C. V., Tjoelker, M. G., Ubierna, N., & Marshall, J. D. (2021). Whole-tree mesophyll conductance reconciles isotopic and gas-exchange estimates of water-use efficiency. *New Phytologist*, 229(5), 2535-2547.
- González-Rodríguez, T., Cisneros-Hernández, I., Acosta Bayona, J., Ramírez-Chavez, E., Martínez-Gallardo, N., Mellado-Mojica, E., . . . Délano-Frier, J. (2019). Identification of factors linked to higher water-deficit stress tolerance in *Amaranthus hypochondriacus* compared to other grain amaranths and *A. hybridus*, their shared ancestor. *Plants*, 8(7), 239.
- Gray, S., Dermody, O., Klein, S., Locke, A., Mcgrath, J., Paul, R., . . . Streliner, R. (2016). Intensifying drought eliminates the expected benefits of elevated carbon dioxide for soybean. *Nat Plants* 2 (9): 16132. In.
- Guzel Deger, A., Scherzer, S., Nuhkat, M., Kedzierska, J., Kollist, H., Brosché, M., . . . Roelfsema, M. R. G. (2015). Guard cell SLAC 1-type anion channels mediate flagellin-induced stomatal closure. *New Phytologist*, 208(1), 162-173.
- Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S.-E., & Shabala, S. (2011). Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. *Journal of experimental botany*, 62(1), 185-193.

- Hatfield, J. L., & Dold, C. (2019). Water-use efficiency: advances and challenges in a changing climate. *Frontiers in plant science*, 10, 103.
- Hedrich, R., & Geiger, D. (2017). Biology of SLAC 1-type anion channels—from nutrient uptake to stomatal closure. *New Phytologist*, 216(1), 46-61.
- Hu, W., & Ma, H. (2006). Characterization of a novel putative zinc finger gene MIF1: involvement in multiple hormonal regulation of Arabidopsis development. *The Plant Journal*, 45(3), 399-422.
- Huang, S., Waadt, R., Nuhkat, M., Kollist, H., Hedrich, R., & Roelfsema, M. R. G. (2019). Calcium signals in guard cells enhance the efficiency by which abscisic acid triggers stomatal closure. *New Phytologist*, 224(1), 177-187.
- Huerta-Ocampo, J., León-Galván, M., Ortega-Cruz, L., Barrera-Pacheco, A., De León-Rodríguez, A., Mendoza-Hernández, G., & Barba de la Rosa, A. (2011). Water stress induces up-regulation of DOF1 and MIF1 transcription factors and down-regulation of proteins involved in secondary metabolism in amaranth roots (*Amaranthus hypochondriacus* L.). *Plant Biology*, 13(3), 472-482.
- Hussain, S., Hussain, S., Qadir, T., Khaliq, A., Ashraf, U., Parveen, A., . . . Rafiq, M. (2019). Drought stress in plants: An overview on implications, tolerance mechanisms and agronomic mitigation strategies. *Plant Science Today*, 6(4), 389-402.
- Jacobsen, S.-E., Liu, F., & Jensen, C. R. (2009). Does root-sourced ABA play a role for regulation of stomata under drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Scientia Horticulturae*, 122(2), 281-287.
- Jacobsen, S.-E., Mujica, A., & Jensen, C. (2003). The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. *Food Reviews International*, 19(1-2), 99-109.
- Jacobsen, S. E., & Christiansen, J. (2016). Some agronomic strategies for organic quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(6), 454-463.
- Jarvis, D. E., Ho, Y. S., Lightfoot, D. J., Schmöckel, S. M., Li, B., Borm, T. J., . . . Saber, N. (2017). The genome of *Chenopodium quinoa*. *Nature*, 542(7641), 307-312.
- Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., . . . Singla-Pareek, S. L. (2016). Transcription factors and plants response to drought

- stress: current understanding and future directions. *Frontiers in plant science*, 7, 1029.
- Kanai, R., & Edwards, G. E. (1999). The biochemistry of C₄ photosynthesis. *C₄ plant biology*, 49, 87.
- Keenan, T. F., Hollinger, D. Y., Bohrer, G., Dragoni, D., Munger, J. W., Schmid, H. P., & Richardson, A. D. (2013). Increase in forest water-use efficiency as atmospheric carbon dioxide concentrations rise. *Nature*, 499(7458), 324-327.
- Knauer, J., Zaehle, S., Reichstein, M., Medlyn, B. E., Forkel, M., Hagemann, S., & Werner, C. (2017). The response of ecosystem water-use efficiency to rising atmospheric CO₂ concentrations: Sensitivity and large-scale biogeochemical implications. *New Phytologist*, 213(4), 1654-1666.
- Kolano, B., McCann, J., Orzechowska, M., Siwinska, D., Temsch, E., & Weiss-Schneeweiss, H. (2016). Molecular and cytogenetic evidence for an allotetraploid origin of *Chenopodium quinoa* and *C. berlandieri* (Amaranthaceae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 100, 109-123.
- Krüger, C., Berkowitz, O., Stephan, U. W., & Hell, R. d. (2002). A metal-binding member of the late embryogenesis abundant protein family transports iron in the phloem of *Fraxinus communis* L. *Journal of Biological Chemistry*, 277(28), 25062-25069.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). Photosynthesis. In *Plant physiological ecology* (pp. 11-99): Springer.
- Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), 275-294.
- Leakey, A., Ainsworth, E., Bernacchi, C., Zhu, X., Long, S., & Ort, D. (2012). Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion and Carbon Assimilation.
- Lin, Y., Watts, D. B., Kloepper, J. W., & Torbert, H. A. (2018). Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on corn growth under different fertility sources. *Communications in Soil Science and plant analysis*, 49(10), 1239-1255.
- Liu, R., Zhang, X., Ren, A., Shi, D.-K., Shi, L., Zhu, J., . . . Zhao, M.-W. (2018). Heat stress-induced reactive oxygen species participate in the regulation

- of HSP expression, hyphal branching and ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum*. *Microbiological research*, 209, 43-54.
- Ma, W. T., Tcherkez, G., Wang, X. M., Schäufele, R., Schnyder, H., Yang, Y., & Gong, X. Y. (2021). Accounting for mesophyll conductance substantially improves ^{13}C -based estimates of intrinsic water-use efficiency. *New Phytologist*, 229(3), 1326-1338.
- Maddocks, A., Young, R. S., & Reig, P. (2015). Ranking the world's most water-stressed countries in 2040.
- Maheshwari, D., Dubey, R., Aeron, A., Kumar, B., Kumar, S., Tewari, S., & Arora, N. K. (2012). Integrated approach for disease management and growth enhancement of *Sesamum indicum* L. utilizing *Azotobacter chroococcum* TRA2 and chemical fertilizer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(10), 3015-3024.
- Maldonado-Taipe, N., Patirange, D. S., Schmöckel, S. M., Jung, C., & Emrani, N. (2021). Validation of suitable genes for normalization of diurnal gene expression studies in *Chenopodium quinoa*. *PloS one*, 16(3), e0233821.
- Manaa, A., Goussi, R., Derbali, W., Cantamessa, S., Essemine, J., & Barbato, R. (2021). Photosynthetic performance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) after exposure to a gradual drought stress followed by a recovery period. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1862(5), 148383.
- Martineau, E., Domec, J.-C., Bosc, A., Denoroy, P., Fandino, V. A., Lavres Jr, J., & Jordan-Meille, L. (2017). The effects of potassium nutrition on water use in field-grown maize (*Zea mays* L.). *Environmental and experimental botany*, 134, 62-71.
- Martínez-Núñez, M., Ruiz-Rivas, M., Vera-Hernández, P., Bernal-Muñoz, R., Luna-Suárez, S., & Rosas-Cárdenas, F. (2019). The phenological growth stages of different amaranth species grown in restricted spaces based in BBCH code. *South African Journal of Botany*, 124, 436-443.
- Martínez, E., Veas, E., Jorquera, C., San Martín, R., & Jara, P. (2009). Re-introduction of quinoa into Arid Chile: Cultivation of two lowland races under extremely low irrigation. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(1), 1-10.
- McAdam, S. A., & Brodribb, T. J. (2015). The evolution of mechanisms driving the stomatal response to vapor pressure deficit. *Plant physiology*, 167(3), 833-843.

- McAdam, S. A., & Brodribb, T. J. (2016). Linking turgor with ABA biosynthesis: implications for stomatal responses to vapor pressure deficit across land plants. *Plant physiology*, 171(3), 2008-2016.
- Medlyn, B. E., De Kauwe, M. G., Lin, Y. S., Knauer, J., Duursma, R. A., Williams, C. A., . . . Limousin, J. M. (2017). How do leaf and ecosystem measures of water-use efficiency compare? *New Phytologist*, 216(3), 758-770.
- Mega, R., Abe, F., Kim, J.-S., Tsuboi, Y., Tanaka, K., Kobayashi, H., . . . Kikuchi, J. (2019). Tuning water-use efficiency and drought tolerance in wheat using abscisic acid receptors. *Nature plants*, 5(2), 153-159.
- Méndez-Espinoza, C., & Vallejo Reyna, M. Á. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 33-64.
- Møller, I. M., & Sweetlove, L. J. (2010). ROS signalling—specificity is required. *Trends in plant science*, 15(7), 370-374.
- Morales, A., Zurita-Silva, A., Maldonado, J., & Silva, H. (2017). Transcriptional responses of Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under water deficit conditions uncovers ABA-independent expression patterns. *Frontiers in plant science*, 8, 216.
- Morales, A. Z., A.; Silva, H. (2011). *Quinoa as a Drought Tolerance Genes Source*. Paper presented at the Plant and Animal Genome XIX Conference, San Diego, USA.
- Morgan, J., Pataki, D., Körner, C., Clark, H., Del Grosso, S., Grünzweig, J., . . . Niklaus, P. A. (2004). Water relations in grassland and desert ecosystems exposed to elevated atmospheric CO₂. *Oecologia*, 140(1), 11-25.
- O'Leary, M. H. (1981). Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*, 20(4), 553-567.
- Obermeier, W. A., Lehnert, L. W., Ivanov, M. A., Luterbacher, J., & Bendix, J. (2018). Reduced summer aboveground productivity in temperate C3 grasslands under future climate regimes. *Earth's Future*, 6(5), 716-729.
- Obermeier, W. A., Lehnert, L. W., Kammann, C., Müller, C., Grünhage, L., Luterbacher, J., . . . Yuan, N. (2017). Reduced CO₂ fertilization effect in temperate C3 grasslands under more extreme weather conditions. *Nature Climate Change*, 7(2), 137-141.

- Okamoto, M., Peterson, F. C., Defries, A., Park, S.-Y., Endo, A., Nambara, E., . . . Cutler, S. R. (2013). Activation of dimeric ABA receptors elicits guard cell closure, ABA-regulated gene expression, and drought tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(29), 12132-12137.
- Palma, J. M., Corpas, F. J., & del Río, L. A. (2009). Proteome of plant peroxisomes: new perspectives on the role of these organelles in cell biology. *Proteomics*, 9(9), 2301-2312.
- Palmeros-Suárez, P. A., Casarrubias-Castillo, K., & Massange-Sánchez, J. A. (2021). Amaranth Transcription Factors in Response to Biotic and Abiotic Stresses. In *The Amaranth Genome* (pp. 167-181): Springer.
- Pantin, F., Monnet, F., Jannaud, D., Costa, J. M., Renaud, J., Muller, B., . . . Genty, B. (2013). The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytologist*, 197(1), 65-72.
- Park, S.-Y., Peterson, F. C., Mosquna, A., Yao, J., Volkman, B. F., & Cutler, S. R. (2015). Agrochemical control of plant water use using engineered abscisic acid receptors. *Nature*, 520(7548), 545-548.
- Parry, M. A., Andralojc, P. J., Scales, J. C., Salvucci, M. E., Carmo-Silva, A. E., Alonso, H., & Whitney, S. M. (2013). Rubisco activity and regulation as targets for crop improvement. *Journal of experimental botany*, 64(3), 717-730.
- Peñarrieta, J. M., Alvarado, J. A., Åkesson, B., & Bergenståhl, B. (2008). Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. *Molecular nutrition & food research*, 52(6), 708-717.
- Pii, Y., Mimmo, T., Tomasi, N., Terzano, R., Cesco, S., & Crecchio, C. (2015). Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biology and fertility of soils*, 51(4), 403-415.
- Ping, M., & Bai, T.-h. (2015). Effects of progressive drought on photosynthesis and partitioning of absorbed light in apple trees. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(4), 681-690.
- Pinto-Irish, K., de la Peña, T. C., Ostria-Gallardo, E., Ibáñez, C., Briones, V., Vergara, A., . . . Castro, P. A. (2020). Seed characterization and early nitrogen metabolism performance of seedlings from Altiplano and coastal ecotypes of Quinoa. *BMC plant biology*, 20(1), 1-17.

- Poudel, S., Pike, D. H., Raanan, H., Mancini, J. A., Nanda, V., Rickaby, R. E., & Falkowski, P. G. (2020). Biophysical analysis of the structural evolution of substrate specificity in RuBisCO. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(48), 30451-30457.
- Prentice, I., Farquhar, G., Fasham, M., Goulden, M., Heimann, M., Jaramillo, V., . . . Wallace, D. (2001). Climate Change 2001: the scientific basis. *Contribution of working group I to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change.*, -.
- Prigent-Combaret, C., Blaha, D., Pothier, J. F., Vial, L., Poirier, M.-A., Wisniewski-Dyé, F., & Moëgne-Loccoz, Y. (2008). Physical organization and phylogenetic analysis of *acdR* as leucine-responsive regulator of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase gene *acdS* in phytobeneficial *Azospirillum lipoferum* 4B and other Proteobacteria. *FEMS microbiology ecology*, 65(2), 202-219.
- Rao, X., & Dixon, R. A. (2016). The differences between NAD-ME and NADP-ME subtypes of C4 photosynthesis: more than decarboxylating enzymes. *Frontiers in plant science*, 7, 1525.
- Razi, K., & Muneer, S. (2021). Drought stress-induced physiological mechanisms, signaling pathways and molecular response of chloroplasts in common vegetable crops. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-40.
- Rivera, G., Bocanegra-García, V., & Monge, A. (2010). Traditional plants as source of functional foods: a review Plantas tradicionales como fuente de alimentos funcionales: una revisión. *CyTA—Journal of Food*, 8(2), 159-167.
- Rodriguez, P. L., & Lozano-Juste, J. (2015). Unnatural agrochemical ligands for engineered abscisic acid receptors. *Trends in plant science*, 20(6), 330-332.
- Sage, R. F. (2020). Global change biology: A primer. *Global change biology*, 26(1), 3-30.
- Sage, R. F., & Sage, T. L. (2013). C4 Plants. *Encyclopedia of Biodiversity*, 361–381. doi:10.1016/b978-0-12-384719-5.00192-1
- Sala, O. E., Chapin, F. S., Armesto, J. J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., . . . Kinzig, A. (2000). Global biodiversity scenarios for the year 2100. *science*, 287(5459), 1770-1774.

- Saucedo, A. L., Hernández-Domínguez, E. E., de Luna-Valdez, L. A., Guevara-García, A. A., Escobedo-Moratilla, A., Bojorquéz-Velázquez, E., . . . Barba de la Rosa, A. P. (2017). Insights on structure and function of a late embryogenesis abundant protein from *Amaranthus cruentus*: an intrinsically disordered protein involved in protection against desiccation, oxidant conditions, and osmotic stress. *Frontiers in plant science*, 8, 497.
- Schmidt, D., Verruma-Bernardi, M. R., Forti, V. A., & Borges, M. T. M. R. (2021). Quinoa and Amaranth as Functional Foods: A Review. *Food Reviews International*, 1-20.
- Schroeder, J. I., Kwak, J. M., & Allen, G. J. (2001). Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. *Nature*, 410(6826), 327-330.
- Sciences., D. P. ((s. f.)). The C4 rice project *University of Oxford, South Parks Rd, Oxford OX1 3RB UK.*, Recuperado marzo de 2022, de <https://c4rice.com/>.
- Sedelnikova, O. V., Hughes, T. E., & Langdale, J. A. (2018). Understanding the genetic basis of C4 Kranz anatomy with a view to engineering C3 crops. *Annual review of genetics*, 52, 249-270.
- Seibt, U., Rajabi, A., Griffiths, H., & Berry, J. A. (2008). Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. *Oecologia*, 155(3), 441-454.
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., . . . Battaglia, M. L. (2021). Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259.
- Seo, M., & Koshiba, T. (2011). Transport of ABA from the site of biosynthesis to the site of action. *Journal of plant research*, 124(4), 501-507.
- Sharkey, T. D. (1988). Estimating the rate of photorespiration in leaves. *Physiologia Plantarum*, 73(1), 147-152.
- Shi, X., & Bloom, A. (2021). Photorespiration: The Futile Cycle? *Plants*, 10(5), 908.
- Shrestha, A., Song, X., & Barbour, M. M. (2019). The temperature response of mesophyll conductance, and its component conductances, varies between species and genotypes. *Photosynthesis research*, 141(1), 65-82.
- Sinclair, T. R., Tanner, C., & Bennett, J. (1984). Water-use efficiency in crop production. *Bioscience*, 34(1), 36-40.

- Sivamani, E., Bahieldin, A., Wraith, J. M., Al-Niemi, T., Dyer, W. E., Ho, T.-H. D., & Qu, R. (2000). Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene. *Plant science*, 155(1), 1-9.
- Slabbert, R. M., & Krüger, G. H. (2011). Assessment of changes in photosystem II structure and function as affected by water deficit in *Amaranthus hypochondriacus* L. and *Amaranthus hybridus* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(9), 978-984.
- Sosa-Zuniga, V., Brito, V., Fuentes, F., & Steinfort, U. (2017). Phenological growth stages of quinoa (*Chenopodium quinoa*) based on the BBCH scale. *Annals of Applied Biology*, 171(1), 117-124.
- Taylor, S., Ripley, B., Woodward, F., & Osborne, C. (2011). Drought limitation of photosynthesis differs between C3 and C4 grass species in a comparative experiment. *Plant, cell & environment*, 34(1), 65-75.
- Taylor, S. H., Hulme, S. P., Rees, M., Ripley, B. S., Ian Woodward, F., & Osborne, C. P. (2010). Ecophysiological traits in C3 and C4 grasses: a phylogenetically controlled screening experiment. *New Phytologist*, 185(3), 780-791.
- Triantaphylides, C., Krischke, M., Hoeberichts, F. A., Ksas, B., Gresser, G., Havaux, M., . . . Mueller, M. J. (2008). Singlet oxygen is the major reactive oxygen species involved in photooxidative damage to plants. *Plant physiology*, 148(2), 960-968.
- Turcios, A. E., Papenbrock, J., & Tränkner, M. (2021). Potassium, an important element to improve water use efficiency and growth parameters in quinoa (*Chenopodium quinoa*) under saline conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 207(4), 618-630.
- Ullah, H., Santiago-Arenas, R., Ferdous, Z., Attia, A., & Datta, A. (2019). Improving water use efficiency, nitrogen use efficiency, and radiation use efficiency in field crops under drought stress: A review. *Advances in agronomy*, 156, 109-157.
- UNESCO. (2010). “*Atlas de Zonas Áridas de América Latina y el Caribe*”. CAZALAC
- Vacher, J.-J. (1998). Responses of two main Andean crops, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) and papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buk.) to drought on the Bolivian Altiplano: Significance of local adaptation. *Agriculture, ecosystems & environment*, 68(1-2), 99-108.

- Valliyodan, B., & Nguyen, H. T. (2006). Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current opinion in plant biology*, 9(2), 189-195.
- Wang, Z., Huang, B., & Xu, Q. (2003). Effects of abscisic acid on drought responses of Kentucky bluegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(1), 36-41.
- Wilkinson, S., & Davies, W. J. (2002). ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), 195-210.
- Wu, X., & Blair, M. W. (2017). Diversity in grain amaranths and relatives distinguished by genotyping by sequencing (GBS). *Frontiers in plant science*, 8, 1960.
- Yanagisawa, S. (2000). Dof1 and Dof2 transcription factors are associated with expression of multiple genes involved in carbon metabolism in maize. *The Plant Journal*, 21(3), 281-288.
- Yanagisawa, S., Akiyama, A., Kisaka, H., Uchimiya, H., & Miwa, T. (2004). Metabolic engineering with Dof1 transcription factor in plants: improved nitrogen assimilation and growth under low-nitrogen conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(20), 7833-7838.
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50.
- Yaqoob, H., Akram, N. A., Iftikhar, S., Ashraf, M., Khalid, N., Sadiq, M., . . . Ahmad, P. (2019). Seed pretreatment and foliar application of proline regulate morphological, physio-biochemical processes and activity of antioxidant enzymes in plants of two cultivars of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Plants*, 8(12), 588.
- Yue, H., Chang, X., Zhi, Y., Wang, L., Xing, G., Song, W., & Nie, X. (2019). Evolution and identification of the WRKY gene family in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Genes*, 10(2), 131.
- Yue, H., Wang, M., Liu, S., Du, X., Song, W., & Nie, X. (2016). Transcriptome-wide identification and expression profiles of the WRKY transcription factor family in Broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.). *BMC genomics*, 17(1), 1-11.
- Zelitch, I. (1979). Photorespiration: studies with whole tissues. In *Photosynthesis II* (pp. 353-367): Springer.

- Zhang, Q., Ficklin, D. L., Manzoni, S., Wang, L., Way, D., Phillips, R. P., & Novick, K. A. (2019). Response of ecosystem intrinsic water use efficiency and gross primary productivity to rising vapor pressure deficit. *Environmental Research Letters*, 14(7), 074023.
- Zhou, Y., He, R., Guo, Y., Liu, K., Huang, G., Peng, C., . . . Duan, L. (2019). A novel ABA functional analogue B2 enhances drought tolerance in wheat. *Scientific reports*, 9(1), 1-9.