



Universidad de Concepción

Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



Impacto del N materno en el balance hídrico de dos ecotipos contrastantes de *Chenopodium quinoa* Willd (Amaranthaceae)

Seminario de Título presentado a la
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Para optar al título de Biólogo

Rodrigo Alfonso Sanhueza Lepe

Concepción, Octubre de 2025



Este Seminario de Título ha sido desarrollado en el Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.



Prof. Guía

Dra. Luisa Bascuñán Godoy

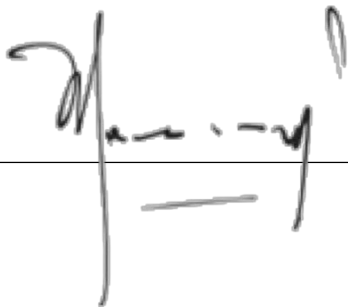
Prof. Evaluadores

Dr. Enrique Ostría Gallardo

Dr. Teodoro Coba de la Peña

Prof. Coordinador Seminario de Título

Dr. Víctor Hernández Santander



Concepción, Octubre de 2025

AGRADECIMIENTOS

Sería imposible escribir una lista completa de personas que me apoyaron durante el proceso que duró la realización de esta tesis, indudablemente primero que nada agradecer a mi familia, mis padres y hermano que estuvieron presentes durante todo este proceso, desde aun cuando ni siquiera entraba a la carrera, hasta este momento culmine, a mis amigos, tanto a los que conocía desde antes de entrar a la universidad, tanto como a aquellas personas que conocí durante este proceso de formación, los cuales, de manera directa o indirectamente me apoyaron, y no me dejaron atrás. A los miembros del laboratorio de Fisiología Vegetal, quienes me han apoyado de todas las maneras posibles desde que llegué, a mi profesora guía, por haberme aceptado en el laboratorio, y que me apoyó constantemente en este proceso y también al Proyecto FONDECYT 1211473. Finalmente, pero no menos importantes, una mención a mis mascotas y a las de mi hermano, quienes no fallaron en darme amor y apoyo en todo momento.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE	4
ÍNDICE DE FIGURAS	6
RESUMEN	8
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	12
<i>Importancia del nitrógeno para las plantas</i>	12
<i>Déficit de nitrógeno y su efecto en las plantas</i>	15
<i>Relaciones hídricas</i>	17
<i>Pre-acondicionamiento y Efecto materno</i>	19
<i>Chenopodium quinoa como modelo de estudio para el efecto materno por déficit de nitrógeno</i>	21
HIPÓTESIS	23
OBJETIVOS	23
<i>General:</i>	23
<i>Específicos</i>	23
METODOLOGÍA	24
<i>Material vegetal y condiciones de crecimiento de plantas madre</i>	24
<i>Cultivo de plantas</i>	25
<i>Análisis de fluorescencia</i>	26
<i>Análisis de intercambio gaseoso</i>	26

<i>Biomasa y rendimiento</i>	27
<i>Estado hídrico</i>	27
<i>Eficiencia en el uso del nitrógeno</i>	27
<i>Análisis estadísticos</i>	27
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIÓN	51
MATERIAL SUPLEMENTARIO	53
BIBLIOGRAFÍA	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotosíntesis, Transpiración y Conductancia estomática de plántulas hijas de madres crecidas a AN y BN determinados a los 40 días de crecimiento. A) Tasa de fotosíntesis neta. B) Tasa de transpiración. C) Conductancia estomática. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 5). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).	31
Figura 2. Parámetros de la eficiencia hídrica a nivel de hoja de plántulas hijas de madres crecidas a AN y BN. A) Eficiencia en el uso del agua (WUE) como gramos de biomasa producía frente a los litros de agua consumida. B) Eficiencia intrínseca en el uso del agua C) Eficiencia en el uso del agua. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).	34
Figura 3. Evapotranspiración acumulada durante el periodo noviembre, 2024 hasta enero, 2025. A) evapotranspiración acumulada hasta los 10 días, B) 20 días, C) 30 días, D) 40 días. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).	35
Figura 4. Biomasa aérea y radicular de las plantas hijas de Faro y UdeC-9 a los 120 días de crecimiento. A) Biomasa de la parte aérea (Tallo, hoja y panoja). B) Biomasa de la parte radicular. C) Ecotipo Faro a los 40 días D) Ecotipo UdeC-9 a los 40 días. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).	36
Figura 5. Componentes del rendimiento en plantas hijas de madres de <i>C. quinoa</i> crecidas a AN y BN. C) Gramos de semillas producidos. D) Número de semillas promedio producido por planta. E) Peso en gramos de 100 semillas. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).	39
Figura 6. Eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE) A) Gramos de biomasa seca entre gramos de N utilizadas y B) Gramos de semillas entre gramos de N utilizado. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).	41

Tabla 1. P- values para los efectos del Ecotipo (E), Nitrógeno materno (N_{F0}) y nitrógeno actual (N_{F1}), y sus interacciones, determinadas mediante análisis de ANOVA de tres vías (three-way ANOVA) a lo largo del ciclo de vida de la planta. 43

RESUMEN

El agua y el nitrógeno (N) son recursos fundamentales que determinan el crecimiento, el desarrollo y la productividad de las plantas. Numerosos estudios demuestran que la deficiencia de N afecta negativamente al equilibrio hídrico, perjudicando la fotosíntesis, a través de cambios en la conductancia hidráulica y estomática. Recientemente se ha informado de que las condiciones de crecimiento maternas afectan al rendimiento de su descendencia (proceso denominado efecto materno). Sin embargo, se desconoce cómo las condiciones maternas de N podrían afectar al equilibrio hídrico de las plantas hijas.

Chenopodium quinoa Willd. posee una alta tolerancia a diversas estreses abióticos. A lo largo del gradiente latitudinal de Chile es posible observar diversos genotipos. Estudios previos han demostrado que los genotipos Faro y UdeC-9 tienen una eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE) contrastante. Este estudio propone investigar cómo el nivel del N materno (N_{F0}) determina el desempeño fisiológico y las relaciones hídricas de la descendencia de ecotipos con alta y baja NUE.

La descendencia (plántulas F1) de madres (plantas F0) de ambos ecotipos se cultivó en condiciones de alto nitrógeno (AN) y bajo nitrógeno (BN). Se midieron los parámetros de fluorescencia de la clorofila, la fotosíntesis, la transpiración, la conductancia estomática (gs), el contenido de agua, la eficiencia intrínseca del uso del agua (iWUE), la WUE foliar (WUE) y la WUE a nivel de planta completa, la biomasa y la productividad.

Se observaron grandes diferencias entre los ecotipos y se comprobó que N_{F1} afectaba a la mayoría de los parámetros estudiados. En cambio, N_{F0} (como factor único o en interacción con N_{F1}) afectaba a la iWUE (Pn/g_s), la WUE a nivel de planta, la biomasa aérea y el número de semillas producidas. En interacción con el ecotipo ($N_{F0} \times E$) se observaron diferencias adicionales en los parámetros fotosintéticos y la biomasa radicular. De hecho, los valores fotosintéticos, WUE y de producción de biomasa más bajos se encontraron de manera consistente en las plantas cultivadas bajo BN, especialmente en la descendencia de madres BN y en el ecotipo UdeC9.

Los resultados revelaron que el estrés por deficiencia de nitrógeno ancestral no confería una memoria intergeneracional que mejorara la resistencia en la descendencia. En cambio, se observó un efecto negativo; los tratamientos con estrés intergeneracional (BN_{F0}) mostraron la menor eficiencia en el uso del agua en ambos ecotipos, especialmente en el ecotipo con menor NUE. En condiciones AN_{F1} Faro, en contraste con UdeC-9, el efecto negativo del estrés materno fue menor y presentó una mayor capacidad para alcanzar valores similares a los de hijas de AN. UdeC-9, por el contrario, a pesar de que F1 creció en AN, las plantas hijas de madres BN mostraron consistentemente valores relacionados a estrés por BN. Esta Tesis muestra resultados diferenciales en comparación con trabajos anteriores publicados en quinoa, sin embargo sugerimos que estos podrían deberse a las distintas condiciones de crecimiento, diferente fuente de N utilizada o a la etapa fisiológica estudiada.

A partir de los resultados obtenidos, se concluye que las condiciones de BN maternas afectan negativamente al rendimiento fisiológico de la descendencia, incluidas sus características hidráulicas, especialmente en el ecotipo con menor NUE.

Palabras clave: *Chenopodium quinoa*, efecto materno, déficit de nitrógeno, eficiencia en el uso del agua (WUE), estrés abiótico.

ABSTRACT

Water and nitrogen (N) are fundamental resources that determine plant growth, development, and productivity. Numerous studies show that N deficiency negatively affects water balance, impairing photosynthesis through changes in hydraulic and stomatal conductance. It has recently been reported that maternal growth conditions affect the performance of their offspring (a process called maternal effect). However, how maternal N conditions might affect the water balance of daughter plants is unknown. *Chenopodium quinoa* Willd. has a high tolerance to various abiotic stresses. Across the latitudinal gradient in Chile, various genotypes can be observed. Previous studies have shown that the Faro and UdeC-9 genotypes have contrasting nitrogen use efficiency (NUE). This study aims to investigate how maternal N (N_{F0}) levels determine the physiological performance and water relations of offspring from ecotypes with high and low NUE.

Chenopodium quinoa Willd. is highly tolerant to various abiotic stresses. A variety of genotypes can be observed across the latitudinal gradient in Chile. Previous studies have shown that the Faro and UdeC-9 genotypes exhibit contrasting nitrogen use efficiency (NUE). This study aims to investigate how maternal N (N_{F0}) levels determine the physiological performance and water relations of offspring from ecotypes with high and low NUE.

The offspring (F1 seedlings) of mothers (F0 plants) of both ecotypes were grown under high nitrogen (HN) and low nitrogen (LN) conditions. Chlorophyll fluorescence parameters, photosynthesis, transpiration, stomatal conductance (gs), water content, intrinsic water use efficiency (iWUE), foliar WUE (iWUE), WUE at plant level, biomass, and productivity were measured.

Significant differences were observed between ecotypes, with N_{F1} found to affect most of the parameters studied. In contrast, N_{F0} (as a single factor or in interaction with N_{F1}) affected iWUE (Pn/gS), plant WUE, aboveground biomass, and the number of seeds produced. Additional differences in photosynthetic parameters and root biomass were observed in interactions with ecotype ($N_{F0} \times E$). In fact, the lowest photosynthetic, WUE

and biomass production values were consistently found in plants grown under LN, especially in the offspring of LN mothers and in the UdeC-9 ecotype.

The results revealed that ancestral nitrogen deficiency stress did not confer intergenerational memory that improved resistance in offspring. Instead, a negative effect was observed; treatments with intergenerational stress (LN_{F0}) showed the lowest water use efficiency in both ecotypes, especially in the ecotype with lower NUE. Under HN_{F1} conditions, in contrast to UdeC9, the negative effect of maternal stress was lower, and it showed a greater capacity to reach values like those of AN daughters. UdeC-9, on the contrary, even though F1 grew in HN, daughter plants from LN mothers consistently showed values related to LN stress. This thesis shows differential results compared to previous works published in quinoa, however we suggest that these could be due to the different growth conditions, different sources of N used, or the physiological stage studied. Based on the results obtained, it is concluded that maternal LN conditions negatively affect the physiological performance of the offspring, including their hydraulic characteristics, especially in the ecotype with the lowest NUE.

Keywords: *Chenopodium quinoa*, maternal effect, nitrogen deficiency, water use efficiency (WUE), abiotic stress.

INTRODUCCIÓN

Importancia del nitrógeno para las plantas

El nitrógeno (N) es el nutriente inorgánico más importante de las plantas. Este influye en todos los aspectos biológicos de las plantas, por ejemplo, en el metabolismo, la asignación de recursos, el crecimiento y el desarrollo (Stitt & Krapp, 1999). La asimilación de este elemento en plantas se produce mediante la incorporación del amonio, nitrato o urea. En la naturaleza, sin embargo, el nitrógeno está presente en muchos otros estados de oxidación. Los compuestos biológicamente más importantes son nitrato, nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso, nitrógeno y amonio (Van Spanning *et al.*, 2005).

Entre las fuentes nitrogenadas disponibles para las plantas, la urea [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$] representa una forma orgánica de particular relevancia agronómica debido a su alta concentración de nitrógeno (46%) y su amplio uso en la agricultura (Watson *et al.*, 1994). A diferencia del nitrato de amonio (NH_4NO_3), que proporciona directamente iones amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) listos para la absorción radicular, la urea requiere una hidrólisis previa mediada por la enzima ureasa del suelo para liberar amonio asimilable (Mobley & Hausinger, 1989). Esta diferencia en la disponibilidad inmediata del nutriente tiene implicancias fisiológicas significativas, ya que la asimilación de urea involucra transportadores específicos y enzimas como la ureasa vegetal, lo que puede modular diferencialmente las respuestas de estrés (Witte, 2011; Liu *et al.*, 2003).

Al ser este un nutriente clave, cuyo impacto en el desarrollo y crecimiento vegetal ha llevado a las plantas a desarrollar estrategias para modular su absorción mediante sus raíces para compensar los cambios en la disponibilidad de este nutriente (Nacry *et al.* 2013). Esta modulación en la absorción de nitrógeno tiene implicancias directas sobre la eficiencia del uso del agua (WUE). La relación entre la asimilación de carbono y la pérdida de agua, conocida como eficiencia en el uso del agua (WUE), puede cuantificarse a diferentes escalas fisiológicas. A nivel foliar e instantáneo, se define la WUE instantánea como la relación entre la tasa de asimilación neta de CO_2 (P_n) y la tasa de transpiración (E ; P_n/E).

Un parámetro relacionado pero más específico es la eficiencia intrínseca del uso del agua (iWUE), que corresponde a la relación entre P_n y la conductancia estomática (g_s ; P_n/g_s). La iWUE es útil porque elimina la influencia del déficit de presión de vapor, aislando así la respuesta fisiológica de la planta (Flexas *et al.*, 2016). Sin embargo, para evaluar la eficiencia integrada a lo largo del ciclo de vida de la planta, se utiliza la WUE a nivel de planta completa, la cual relaciona la biomasa seca total producida con el agua total consumida o transpirada, integrando así todos los procesos de crecimiento y pérdidas de agua (Hoover *et al.*, 2023). Estos parámetros son clave para vincular el ciclo del carbono con el del agua. Dado que el N es un componente central de enzimas fotosintéticas como la RuBisCO y de la clorofila, una deficiencia de N limita la capacidad fotosintética (P_n), lo que a menudo conduce a una reducción en la conductancia estomática (g_s) para optimizar el uso de recursos, alterando así tanto la iWUE como la WUE (Quemada & Gabriel, 2016; Ding *et al.*, 2018). Por lo tanto, la relación entre N disponible y balance hídrico se erige como un eje fisiológico clave para la productividad vegetal, especialmente en escenarios de estrés.

La interconexión fisiológica entre la eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE) y la eficiencia en el uso del agua (WUE) constituye un eje fundamental para la adaptación de las plantas a entornos con recursos limitados. Una alta NUE, entendida como la capacidad de la planta para producir biomasa por unidad de N absorbido (Gastal & Lemaire, 2002), puede sustentar indirectamente una alta WUE. Esto se debe a que el N es un componente central de la maquinaria fotosintética, como la RuBisCO y los complejos colectores de luz; por lo tanto, una utilización más eficiente del N permite mantener tasas fotosintéticas (P_n) más altas bajo condiciones de limitación, lo que a su vez puede mejorar el numerador en el cálculo de la WUE (P_n/E o biomasa/agua consumida). Al mismo tiempo, las señales de deficiencia de N usualmente inducen un cierre estomático parcial, reduciendo la transpiración (E) y afectando a la WUE foliar (Quemada & Gabriel, 2016; Ding *et al.*, 2018). Así, los genotipos con alta NUE suelen presentar una mejor coordinación entre la asimilación de carbono y la pérdida de agua, optimizando ambos recursos de manera integrada y exhibiendo una mayor resiliencia frente a estrés combinado de nitrógeno y agua (Gao *et al.*, 2020).

Un suministro de nitrógeno que satisface plenamente los requerimientos nutricionales para el crecimiento y desarrollo se podría definir como una condición de nitrógeno óptima, o de alto nitrógeno (AN), la cual optimiza procesos de síntesis de clorofila, la actividad de la RuBisCO y la capacidad fotosintética (Stitt & Krapp, 1999; Evans, 1989). Por el contrario, el bajo nitrógeno (BN) induce estrés nutricional, limitando la biosíntesis de aminoácidos y proteínas, lo que se traduce en una reducción del área foliar, una menor eficiencia fotoquímica y una senescencia acelerada (Mu & Chen, 2021; Havé *et al.*, 2017).

Las plantas, como organismos sésiles viven en un medioambiente complejo que frecuentemente contiene distintas fuentes de estrés (Zhu, 2016). Estas condiciones frecuentemente adversas incluyen al estrés biótico, como la herbivoría y los patógenos, así como también al estrés abiótico, tales como la sequía, el calor, el déficit de nutrientes, etc. En conjunto a esto, factores como el cambio climático, cambios en el uso de suelo, cambios en la cobertura terrestre y la distribución de recursos hídricos, se espera que la disponibilidad de recursos hídricos sea afectada (Fuentes *et al.*, 2021). También, los estudios indican que, debido a los cambios en el uso de suelos, especialmente debido a la agricultura y a las plantaciones forestales, se espera que la balanza hídrica en Chile se incline hacia un futuro más árido. Los cambios tanto en las temperaturas como en las precipitaciones afectarán a la fotosíntesis de los cultivos, así como también su velocidad de crecimiento y su balance nutricional e hídrico (Long, 1991; Meza *et al.*, 2008). Así también, debido a que el crecimiento y desarrollo de los cultivos responde de manera dinámica a las condiciones climáticas de su entorno, estos muestran respuestas umbral frente a eventos extremos, ya que estos cambios son capaces de producir impactos significativos en la productividad agronómica y a la producción mundial de alimentos (Meza *et al.*, 2008).

De acuerdo con estudios realizados por Reich *et al.*, (1998) existe una relación directa entre la asimilación de carbono y el nitrógeno foliar para varias especies y géneros leñosos templados y tropicales. Además, también existe una estrecha relación entre la cantidad de nitrógeno disponible para las plantas, y la cantidad de RuBisCO presente en estas, siendo esta enzima de gran importancia por su función de catalizar la asimilación de CO₂. La aplicación de más nitrógeno aumenta la concentración de la enzima RuBisCO en las plantas,

principalmente como consecuencia de un incremento de la proteína soluble y el nitrógeno total; y también porque previene la disminución de la RuBisCO a medida que envejecen las hojas. El incremento de nitrógeno disponible para las plantas también incrementa la concentración de clorofilas (Ookawa *et al.*, 2004; Gutiérrez del pozo, 2010). Sin embargo, esta dependencia crítica de procesos fisiológicos clave respecto al nitrógeno hace que las plantas sean particularmente vulnerables cuando su disponibilidad es limitada, desencadenando un estado de estrés nutricional con profundas consecuencias.

Déficit de nitrógeno y su efecto en las plantas

La limitación de nitrógeno es un estrés abiótico común en los ecosistemas (Martin *et al.*, 2002), que impacta severamente el crecimiento y desarrollo de las plantas. Frente a este déficit, las plantas activan respuestas fisiológicas complejas que incluyen una reducción en la eficiencia fotosintética. Esta disminución se asocia principalmente a una menor conductancia estomática y a la degradación de componentes clave como la clorofila y los complejos proteicos de los fotosistemas, dado que el N es un constituyente esencial de estas moléculas (Mu *et al.*, 2016; Martin *et al.*, 2007). Como consecuencia, no solo se compromete la fijación de carbono, sino que también se altera el balance hídrico, aumentando las pérdidas de agua por transpiración y reduciendo la eficiencia en el uso del agua (WUE) (Qin, 2015). Una forma sensible de evaluar este estrés es mediante el análisis de la fluorescencia de la clorofila *a*, una técnica no invasiva que refleja el estado funcional de los fotosistemas bajo condiciones adversas (Salazar *et al.*, 2016; Swoczyna *et al.*, 2022). La estrecha interconexión entre los ciclos del N y del agua se manifiesta también a nivel molecular; por ejemplo, la disponibilidad y forma de N influyen en la expresión de acuaporinas y en el flujo hídrico radial (Ding *et al.*, 2018). Por ello, la mejora simultánea de la eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE) y del agua (WUE) se considera una estrategia crucial para una agricultura sostenible frente a la escasez de recursos (Quemada & Gabriel, 2016).

La disminución de la tasa fotosintética se debe principalmente a la reducción de la conductancia estomática, lo cual disminuye la concentración de CO₂ intercelular; también se reduce la cantidad de proteínas asociadas a la captación de luz, lo que inhibe la tasa de transporte de electrones y por consecuencia aumenta la disipación de energía en forma de calor. Finalmente, se observa una disminución en el contenido y actividad de enzimas fotosintéticas reduciendo la tasa de carboxilación. Por otra parte, durante la etapa reproductiva, el déficit de N puede llegar a inducir una aceleración en el proceso de senescencia de las plantas y la degradación de los cloroplastos, afectando especialmente las enzimas (Mu & Chen, 2021).

La eficiencia en el uso del agua (WUE) puede evaluarse a diferentes escalas. A nivel foliar e instantáneo, la WUE (Pn/E) y la iWUE (Pn/g_s) son indicadores clave de la relación entre la ganancia de carbono y la pérdida de agua en un momento dado. Sin embargo, a nivel de planta completa o de cultivo, la WUE se define típicamente como la relación entre la biomasa producida y el agua consumida o transpirada a lo largo de todo el ciclo de vida, integrando así las respuestas fisiológicas en el tiempo (Hoover *et al.*, 2023). El déficit de N afecta negativamente a ambos niveles de WUE, ya que al reducir la capacidad fotosintética, disminuye el numerador (biomasa o Pn), mientras que las respuestas estomáticas pueden o no compensar eficientemente el denominador (transpiración o consumo de agua).

Al respecto de la pérdida de agua debido a efectos del estrés, para calcular esta pérdida de agua por mecanismos fisiológicos en plantas, se pueden utilizar diversas formas, entre ellas, la eficiencia del uso del agua (WUE por sus siglas en inglés), que se define por la relación entre los gramos del agua transpirados por un cultivo, por gramo de materia seca producida. De esta manera, los cultivos más eficientes en el uso del agua producen más materia seca por gramo del agua transpirada. En plantas que presentan metabolismo C3 o C4, el uso más eficiente del agua está directamente correlacionado con el tiempo de apertura y resistencia estomáticas, ya que mientras la planta absorbe el CO₂ para la fotosíntesis, el agua se pierde por transpiración, con proporción variable en función de la conductancia estomática y del gradiente de potencial entre la superficie foliar y la atmósfera, siguiendo una corriente de potenciales hídricos (Pereira-Netto *et al.*, 2002).

De acuerdo con la revisión bibliográfica realizada por Ding *et al.*, 2018, el nitrógeno y el agua se conectan además durante el transporte por flujo de masa, aumentando o disminuyendo la absorción de agua por la raíz dependiendo del tipo y niveles de N disponibles. Adicionalmente, una mayor disponibilidad de nitrógeno aumenta la velocidad de absorción de nitrógeno, así como también la velocidad de absorción de agua por las raíces en plantas de maíz. Junto a esto, las plantas reaccionan de diferente manera según el tipo de nitrógeno que absorben, en plantas de arroz suplementadas con amonio, se observó una mayor expresión de genes de acuaporinas (PIPs y TIPs) que aquellas suplementadas con nitrato. Estudios han demostrado que la urea induce patrones de expresión génica distintivos en comparación con otras fuentes nitrogenadas, afectando la señalización hormonal y las respuestas de aclimatación al estrés (Merigout *et al.*, 2008).

Relaciones hídricas

El agua es un recurso fundamental para la planta, no solo como solvente universal y medio de transporte, sino como un insumo crítico para el proceso fotosintético. Sin embargo, la adquisición de CO₂ para la fotosíntesis conlleva una pérdida inevitable de agua por transpiración a través de los estomas. La relación entre estos dos procesos, la ganancia de carbono y la pérdida de agua, define la eficiencia en el uso del agua (WUE), como un parámetro fisiológico clave que determina la adaptación de las plantas a ambientes con limitaciones hídricas y/o nutricionales (Flexas *et al.*, 2016). Comprender las distintas escalas a las que se mide la WUE es esencial para interpretar correctamente las estrategias de las plantas frente al estrés.

La WUE puede cuantificarse a diferentes niveles, desde la hoja individual hasta la planta completa o el ecosistema, y cada una proporciona información complementaria (Condon *et al.*, 2004). A nivel de hoja, la WUE se evalúa comúnmente de dos maneras:

WUE Instantánea (Pn/E): Se calcula como la relación entre la tasa de asimilación neta de CO₂ (Pn) y la tasa de transpiración (E). Este valor refleja el balance inmediato entre la ganancia de carbono y la pérdida de agua en las condiciones ambientales específicas del momento de la medición.

Eficiencia intrínseca del uso del agua ($iWUE$ o Pn/g_s): Se define como la relación entre la tasa de asimilación neta de CO_2 (P_n) y la conductancia estomática (g_s). Este parámetro es particularmente útil porque elimina la influencia del déficit de presión de vapor (VPD) entre la hoja y la atmósfera, aislando así la respuesta fisiológica de la planta y proporcionando una medida más directa de la eficiencia con la que los estomas regulan el intercambio de CO_2 por vapor de agua (Flexas *et al.*, 2020).

Una alta $iWUE$ indica que la planta es capaz de asimilar una cantidad relativamente grande de CO_2 por unidad de agua perdida, lo que típicamente se asocia con un cierre estomático parcial o una mayor capacidad fotosintética. Sin embargo, una $iWUE$ muy alta no siempre se traduce en una mayor productividad, ya que puede resultar de una fuerte restricción estomática que, si bien limita la pérdida de agua, también limita la entrada de CO_2 y, por ende, el crecimiento (Lawson & Blatt, 2014).

Más allá de la escala foliar e instantánea, la WUE puede evaluarse a nivel de planta completa a lo largo de su ciclo de vida. Esta WUE integral (a menudo denominada WUE de biomasa) se calcula como la relación entre la biomasa seca total producida por la planta y el agua total consumida (o transpirada) durante su ciclo de crecimiento (Hoover *et al.*, 2023). La WUE a nivel de planta integra todos los procesos que afectan el crecimiento y el uso del agua, no solo los eventos fotosintéticos momentáneos. Factores como la respiración, la senescencia foliar, la asignación de carbono a las raíces, la eficiencia en la producción de semillas y la evaporación directa desde el suelo influyen en este valor (Condon *et al.*, 2004). Por lo tanto, es posible que una planta muestre una WUE foliar alta en un momento dado, pero una WUE a nivel de planta baja si, por ejemplo, tiene una alta tasa de respiración nocturna o una corta duración de su dosel foliar fotosintéticamente activo.

La conexión entre la disponibilidad de N y la WUE es fundamental, dado que una gran proporción del nitrógeno foliar se invierte en la maquinaria fotosintética, especialmente en la enzima RuBisCO y los complejos de captación de luz, la disponibilidad de N es un determinante principal de la capacidad fotosintética máxima (A_{max}) (Evans, 1989). Bajo déficit de N, la reducción en P_n suele llevar a una disminución en g_s , ya que la planta ajusta su apertura estomática para igualar la capacidad bioquímica de asimilar CO_2 , un concepto

conocido como coordinación entre P_n y g_s (Wong *et al.*, 1979). Este acoplamiento significa que el déficit de N afecta simultáneamente al numerador (P_n) y al denominador (g_s o E) de las ecuaciones de WUE e $iWUE$, resultando en respuestas complejas. En algunos casos, la $iWUE$ puede mantenerse o incluso aumentar levemente bajo estrés moderado de N debido a una reducción proporcionalmente mayor en g_s que en P_n . Sin embargo, bajo estrés severo, tanto P_n como la WUE a nivel de planta suelen disminuir drásticamente, ya que la limitación fotosintética es demasiado grande como para ser compensada por el cierre estomático (Quemada & Gabriel, 2016). Además, el N influye en las relaciones hídricas a nivel radicular y de transporte. Diferentes formas de N (nitrato vs. amonio vs. urea) pueden modular la expresión de acuaporinas, proteínas que facilitan el transporte de agua a través de las membranas, afectando así la conductividad hidráulica radicular y la capacidad de la planta para suministrar agua a las hojas (Ding *et al.*, 2018).

Pre-acondicionamiento y Efecto materno

El ambiente en el que crece una planta madre puede influir significativamente en el fenotipo de su descendencia, un fenómeno conocido como efecto materno (Roach & Wulff, 1987). Este efecto puede manifestarse a través de modificaciones en el tamaño y composición nutricional de la semilla, así como a través de cambios epigenéticos hereditarios que alteran la expresión génica en la siguiente generación sin modificar la secuencia de ADN (Herman & Sultan, 2011). En el contexto del estrés abiótico, se ha documentado que el estado nutricional de la planta madre afecta la germinación, el establecimiento y el desempeño fisiológico de la progenie (Longas *et al.*, 2016, 2021). Por ejemplo, en *Arabidopsis thaliana*, la exposición de las plantas madre a estrés por sequía leve puede afectar el tiempo de floración y la arquitectura radicular de la descendencia (Van Dooren *et al.*, 2020). Asimismo, el estrés por nitrógeno en plantas madre de *Buglossoides arvensis* afectó la germinación de las semillas hijas y su respuesta a fitohormonas (Longas *et al.*, 2021). Estos efectos maternos representan un mecanismo potencial de aclimatación rápida que podría ser particularmente relevante en especies resilientes, como *Chenopodium quinoa*.

El efecto materno se define como la influencia del fenotipo o ambiente de la planta madre sobre el fenotipo de su descendencia, más allá de la herencia directa de secuencias de ADN. Este fenómeno constituye un mecanismo de herencia blanda que permite una transmisión rápida de información ambiental entre generaciones. Su manifestación puede ser a través de varios caminos: I) el provisionamiento de recursos en la semilla, donde el tamaño, el contenido de reservas (almidones, lípidos, proteínas) y la dotación hormonal de la semilla están directamente determinados por el estado nutricional y fisiológico de la madre durante su desarrollo; II) modificaciones epigenéticas, como la metilación del ADN o las modificaciones de histonas, que pueden alterar la expresión génica en la descendencia sin cambiar la secuencia de nucleótidos; y III) la transmisión de moléculas de ARN mensajeros y pequeños ARNs que pueden regular procesos de desarrollo en el embrión y la plántula. Estos mecanismos confieren a la planta madre la capacidad de "programar" el desarrollo inicial de su progenie, influyendo en características como la velocidad de germinación, el vigor de las plántulas, la arquitectura radicular, la tolerancia al estrés e incluso el tiempo de floración, preparándolas para un entorno similar al que ella experimentó (Roach & Wulff, 1987; Herman & Sultan, 2011; Bascuñán-Godoy *et al.*, 2018a).

La maladaptación ocurre cuando un efecto materno, inducido por las condiciones ambientales de la generación parental, genera un fenotipo en la descendencia que reduce su aptitud biológica (fitness) en el ambiente que esta última realmente experimenta. Esencialmente, es una consecuencia negativa de un mecanismo diseñado para ser plástico y beneficioso. Este desajuste surge porque la señal ambiental captada por la madre es utilizada como un predictor del futuro ambiente de su descendencia; si esta predicción es incorrecta, los rasgos heredados se vuelven inapropiados o incluso perjudiciales. Por ejemplo, una madre que crece en condiciones de sombra podría producir semillas que, al germinar, prioricen la elongación del tallo para escapar rápidamente de la sombra. Sin embargo, si esas plántulas crecen en un ambiente de pleno sol, esa inversión en elongación en detrimento del sistema radicular o de las defensas será un desperdicio de recursos y las hará más vulnerables al estrés hídrico o a la herbivoría. Este escenario subraya que los efectos maternos no son inherentemente adaptativos; su valor depende críticamente de la correlación ambiental entre generaciones. Cuando esta correlación se rompe, la herencia

transgeneracional de ciertos fenotipos puede convertirse en una carga ecológica y fisiológica para la nueva generación, limitando su crecimiento, productividad y supervivencia (Uller *et al.*, 2013; Herman & Sultan, 2016; Sultan *et al.*, 2009).

Chenopodium quinoa como modelo de estudio para el efecto materno por déficit de nitrógeno

El cambio climático, junto con factores como la alteración en el uso de suelo, cambios en la cobertura terrestre y la distribución de recursos hídricos, afecta la disponibilidad de agua para la agricultura, proyectando un futuro más árido para Chile (Fuentes *et al.*, 2021). Los estudios indican que, debido a los cambios en el uso de suelos, especialmente por la agricultura y las plantaciones forestales, se espera que la balanza hídrica en Chile se incline hacia una mayor aridez. Desde un punto de vista fisiológico, los cambios en las temperaturas y las precipitaciones afectan la fotosíntesis de los cultivos, así como su velocidad de crecimiento y su balance nutricional e hídrico (Long, 1991; Meza *et al.*, 2008). Además, dado que el crecimiento y desarrollo de los cultivos responde dinámicamente a las condiciones climáticas y muestra respuestas umbral frente a eventos extremos, estos cambios pueden impactar significativamente la productividad agronómica y la producción mundial de alimentos (Meza *et al.*, 2008). En este escenario, la capacidad de especies resilientes como *Chenopodium quinoa* para hacer un uso eficiente de recursos limitantes como el nitrógeno y el agua se vuelve crucial para la seguridad alimentaria.

Chenopodium quinoa Willd. (Amaranthaceae) es un cultivo andino notable por su alta tolerancia a múltiples estreses abióticos, como sequía, salinidad y bajas temperaturas (FAO, 2011, Taylor & Parker, 2002). Entre sus ecotipos, Faro (de la costa chilena) ha demostrado una tolerancia al déficit de nitrógeno, manteniendo procesos fisiológicos y rendimiento, lo que sugiere una alta eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE) (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018a). En contraste, el ecotipo UdeC-9, también costero, presenta una sensibilidad mayor, ofreciendo un modelo comparativo ideal (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018b). Este contraste

convierte a estos ecotipos en un sistema ideal para investigar las bases fisiológicas de la tolerancia a la limitación de N.

La evidencia sugiere que esta especie posee una notable plasticidad fenotípica y fisiológica, con adaptaciones como relaciones hídricas que indican tolerancia a la sequía (González *et al.*, 2011; Jacobsen y Mujica, 2001; Mujica *et al.*, 1999; Razzaghi *et al.*, 2011) así como una capacidad documentada para heredar mecanismos de resistencia a su descendencia (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018a; Castro *et al.*, 2024; Van Dooren *et al.*, 2020)

Estudios recientes han comenzado a explorar los efectos maternos del estrés nutricional (Castro *et al.*, 2024), y existe evidencia de que las respuestas al estrés pueden heredarse mediante cambios fisiológicos y epigenéticos (Liu *et al.*, 2021). Sin embargo, el enfoque se ha centrado principalmente en la memoria intrageneracional (somática), y se desconoce si la exposición parental al déficit de N genera una memoria intergeneracional que module la eficiencia del uso del agua (WUE) en la descendencia de ecotipos con NUE contrastante.

Hasta la fecha, y debido a la importancia de *Chenopodium quinoa* Willd como planta de alto interés, ha generado una gran ola de investigaciones alrededor de esta, especialmente en las capacidades de resistencia de esta especie a diversos factores de estrés, como lo son la sequía, salinidad, pH, déficit nutricional, entre otros.

Recientemente se ha publicado que el N materno afecta la capacidad fisiológica de las plantas, además sabemos que los genotipos Faro y UdeC poseen contrastante eficiencia en el uso del N. Considerando que el contenido de N afecta las relaciones hídricas en las plantas, nos preguntamos si.

¿Un diferencial status de N en plantas madre afectaría el desempeño fisiológico y las relaciones hídricas en las plantas hijas.? ¿Cómo la diferencial capacidad de adquisición de N entre plantas con contrastante NUE afectara a las hijas?

HIPÓTESIS

La condición de déficit de N de las madres afectara negativamente la eficiencia del uso del agua en plantas hijas. Esto será más notorio en plantas del genotipo más sensibles al N (UdeC-9)

OBJETIVOS

General:

Estudiar el efecto intergeneracional del déficit de nitrógeno (N materno), en la eficiencia del uso del agua en ecotipos (E) NUE contrastantes.

Específicos

Bajo condiciones Control y de déficit de nitrógeno en dos ecotipos NUE contrastantes:

- Estudiar las relaciones hídricas en plántulas descendientes de plantas sometidas a condiciones de AN (Alto nitrógeno) y BN (Bajo nitrógeno)
- Estudiar procesos fisiológicos claves para entender la resistencia al déficit de nitrógeno
- Estudiar la biomasa y productividad entre los tratamientos

METODOLOGÍA

Material vegetal y condiciones de crecimiento de plantas madre

Para este estudio se utilizaron semillas de ecotipo Faro (con alta eficiencia en uso de N) y Udec-9. Tanto las semillas de Faro y Udec-9 originales se obtuvieron del Banco Nacional de Semillas en Vicuña, Chile (INIA-Intihuasi).

Las plantas madre fueron crecidas el año 2024 en un diseño completamente aleatorio con un factor de tratamiento: nivel de N (óptimo o limitante). Para esto, las semillas fueron germinadas directamente en el sustrato, en macetas de 10, las cuales contenían 5 Kg de una mezcla de arena fina y arena gruesa en proporción 1:1. Se hicieron 3 suplementaciones: una al momento de siembra, otra a las 4 hojas verdaderas y finalmente a las 8 hojas verdaderas, con medio de cultivo MS modificado de Murashige & Skoog (1962).

Un total de 50 macetas se suplementaron con Urea hasta alcanzar dos niveles: Alto Nitrógeno (AN: 0,6 g de N) y Bajo Nitrógeno (BN: 0,3 g de N) los cuales mantuvieron a niveles óptimos de humedad del suelo (100% WHC) por riego con 1 L de agua cada 3 días. Durante el llenado de grano, que ocurrió alrededor de cien días después de la siembra, se realizó la caracterización fotosintética. Posteriormente, las plantas fueron llevadas a madurez fisiológica, donde se colectaron las semillas hijas que fueron usadas en este trabajo.

Los experimentos fueron realizados durante dos años consecutivos (2023 y 2024) bajo condiciones de invernadero en la Universidad Concepción (29,54°S, 71,14°E). Las condiciones entre los meses de cultivo (septiembre-enero) son aproximadamente 1200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR al mediodía (luz natural), y a temperaturas máximas y mínimas (rangos diarios) de 23 °C y 17 °C, respectivamente, 12 h de duración del día y 80% relativa humedad.

Cultivo de plantas

Para realizar esto, se sembraron semillas de quinoa, para ello primero fue necesario la preparación del sustrato, preparado en macetas de 8 kg, a las cuales se les incorporó una mezcla de 50% de arena de grano fino y 50% de arena de grano grueso, posteriormente de preparadas las macetas, se les añadió 600 ml de solución nutritiva de solución nutritiva MS. o solución Murashige y Skoog (MS).

Se prepararon 45 litros de solución total, 22,5 litros con alto nitrógeno y 22,5 litros con bajo nitrógeno, para esto se ajustaron las cantidades deseadas de Urea hasta alcanzar dos niveles: Alto Nitrógeno (0,6 g de N) y Bajo Nitrógeno (0,3 de N), para alcanzar estos respectivos niveles de nitrógeno, a la solución de alto nitrógeno se le añadieron 250 ml de Urea a 650 g/L y para bajo nitrógeno se le añadieron 250 ml Urea a 325 g/L.

Se prepararon también 102 semillas, 56 de plantas crecidas en alto nitrógeno, y 56 de plantas crecidas en bajo nitrógeno. Para este estudio se utilizaron semillas de ecotipo Faro (con alta eficiencia en uso de N y gran adaptabilidad) y también del ecotipo UdeC-9. Posteriormente, una vez germinadas las plántulas, se eliminaron las plantas que germinaron de manera tardía o con defectos, dejando solo una planta por maceta.

Finalmente, se obtuvieron 8 tratamientos (4 tratamientos por ecotipo), con 7 semillas por tratamiento. Estos tratamientos fueron sembrados el 28 de noviembre de 2024 y se les añadió la solución MS correspondiente en dos tandas de 300 ml, añadidas antes y después de sembrar la semilla y alcanzando así cada maceta un peso aproximado de 8,6 Kg. Estos tratamientos fueron sembrados en un invernadero y se les regó una vez día por medio.

Los 4 tratamientos obtenidos para el ecotipo Faro fueron: Faro AN_{F0}AN_{F1}, Faro AN_{F0}BN_{F1}, Faro BN_{F0}AN_{F1} y Faro BN_{F0}BN_{F1}, y los 4 tratamientos del ecotipo UdeC-9 fueron: UdeC-9 AN_{F0}AN_{F1}, UdeC-9 AN_{F0}BN_{F1}, UdeC-9 BN_{F0}AN_{F1} y UdeC-9 BN_{F0}BN_{F1}

Análisis de fluorescencia

Las mediciones de fluorescencia de clorofila (Chl) se realizaron con un fluorímetro portátil (FMS 2, Hansatech Instruments Ltd., Norfolk, Reino Unido). Las hojas de las plantas de cada grupo ($n = 5$) se adaptaron a la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de las mediciones. La luz actínica utilizada para las mediciones fue de $1.200 \mu\text{mol fotonos m}^2 \text{ s}^{-1}$ siguiendo a Bascuñán-Godoy *et al.*, 2015.

A las plantas se les realizó el análisis de fluorescencia 14 días luego de la siembra

Finalmente, los parámetros de fluorescencia obtenidos, incluyendo la máxima eficiencia fotoquímica del PSII (F_v/F_m), el quenching no fotoquímico (NPQ), y la tasa de transporte de electrones fueron calculados siguiendo a Maxwell y Johnson, 2000. Mientras que el quenching fotoquímico, que estima la fracción de centros del PSII, se calculó acorde a Kramer *et al.*, 2004.

Análisis de intercambio gaseoso

Las mediciones del intercambio de gases fotosintéticos se realizaron en hojas sanas completamente expandidas (tercera hoja desde arriba) aproximadamente a los 60 días de germinadas las plantas ,utilizando un CIRAS-2 infra red gas analyzer system (PP SYSTEMS, MA, EE. UU.). Las hojas se equilibraron primero con un flujo de densidad de fotones de $1200 \mu\text{mol m}^2 \text{ s}^{-1}$ (ligeramente superior al punto de saturación de luz) durante al menos 10 minutos. La concentración de CO_2 se fijó en 400 ppm. La temperatura de la hoja se mantuvo a $28 \text{ }^\circ\text{C}$ y el déficit de presión de vapor hoja-aire se mantuvo entre 1 y $1,3 \text{ kPa}$. En estas condiciones de cámara, se determinó la fotosíntesis neta (P_n), la conductancia estomática (g_s), la tasa de transpiración (E), la eficiencia intrínseca del uso del agua ($iWUE$), $iWUE$ se calculó como la relación $(P_n/g_s) / 1000$, y la eficiencia en el uso del agua (WUE), WUE se calculó como la relación entre P_n/E .

Biomasa y rendimiento

El peso seco de hojas, panoja y raíces se determinó a los 120 días de crecimiento secando el tejido a 60 °C durante 48 h hasta alcanzar peso constante. El rendimiento de grano se determinará como el peso total de grano por planta al final de la temporada de crecimiento, también se analizó el peso cada 100 semillas, así como el número de semillas producidas por planta.

Estado hídrico

La evapotranspiración fue medida utilizando la fórmula descrita por Luna-Flores *et al.*, 2012. En donde PM_{mcc} es el peso de la maceta a CC del último riego realizado, PM_{mdm} es el peso de la maceta del día del muestreo y d son los días transcurridos entre el último riego realizado y el día del muestreo.

$$ET = (PM_{mcc} - PM_{mdm}) / d$$

El consumo de agua fue monitoreado durante todo el periodo desde la germinación y crecimiento de las plántulas hasta su cosecha.

Finalmente, el WUE a nivel de planta fue determinado utilizando la descripción de Hoover *et al.* 2023 según la biomasa seca total producida entre los litros de agua total consumidos durante el periodo de noviembre, 2024 hasta la cosecha de las plantas en febrero, 2025

Eficiencia en el uso del nitrógeno

La eficiencia en el uso del N (NUE) de dos formas, como la relación entre los gramos de biomasa seca entre gramos de N (Biomasa seca/N) y como los gramos de semillas producidos entre los gramos de N utilizados (Semillas/N)

Análisis estadísticos

Se utilizaron ANOVA de tres vías (Three-way ANOVA) para estudiar el efecto del suministro de N en las plantas madre (F0) y su impacto en sus descendientes (F1) creciendo

en distintas condiciones de N. Se utilizó el test LSD Fisher (significancia $p < 0.05$) como test post-hoc para comprobar las diferencias significativas entre los tratamientos. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando distintos software, Infostat 2020e y SigmaStat 3.10.

RESULTADOS

La **Figura 1** muestra los parámetros de intercambio gaseoso medidos a los 40 días. La estadística obtenida con el análisis de ANOVA de tres vías, indica que la fotosíntesis neta (Pn) estuvo influenciada significativamente por el ecotipo y el nitrógeno actual ($p < 0.001$), así como con una interacción ecotipo \times nitrógeno parental ($E \times N_{F0}$: $p = 0.002$) (**Tabla 1**). Los tratamientos con alto nitrógeno (AN_{F0}) presentan mayor tasa de fotosíntesis neta, acompañada de una conductancia estomática y transpiración elevada. La conductancia estomática (Gs) y la transpiración (E) mostraron interacciones $E \times N_{F0}$ altamente significativas ($p < 0.001$), indicando que la respuesta estomática al estrés ancestral es dependiente del ecotipo.

La fotosíntesis neta (**Figura 1A**) fue superior en los tratamientos descendientes de AN en ambos ecotipos, destacando $AN_{F0}AN_{F1}$ y $AN_{F0}BN_{F1}$ en Faro. La tasa de transpiración (**Figura 1B**) fue mayor en $AN_{F0}AN_{F1}$ de Faro y menor en $BN_{F0}BN_{F1}$ del mismo ecotipo (diferencia del 23,3%). En UdeC-9, el tratamiento $BN_{F0}AN_{F1}$ registró la mayor tasa de transpiración, superando en un 31,5% a $AN_{F0}AN_{F1}$. La conductancia estomática (**Figura 1C**) mostró un patrón similar al de la transpiración: en Faro, los tratamientos AN presentaron mayor conductancia, mientras que en UdeC-9 fueron los tratamientos BN los que mostraron valores más altos, con $BNAN$ registrando un 19,8% más que $AN_{F0}AN_{F1}$.

En el ecotipo UdeC-9, sin embargo, la relación entre estos parámetros es menos conservadora. Los tratamientos con ancestros de BN_{F0} mantienen una conductancia estomática y transpiración elevadas incluso bajo estrés por nitrógeno actual, lo que sugiere una priorización de captura de CO_2 a expensas de una mayor pérdida de agua.

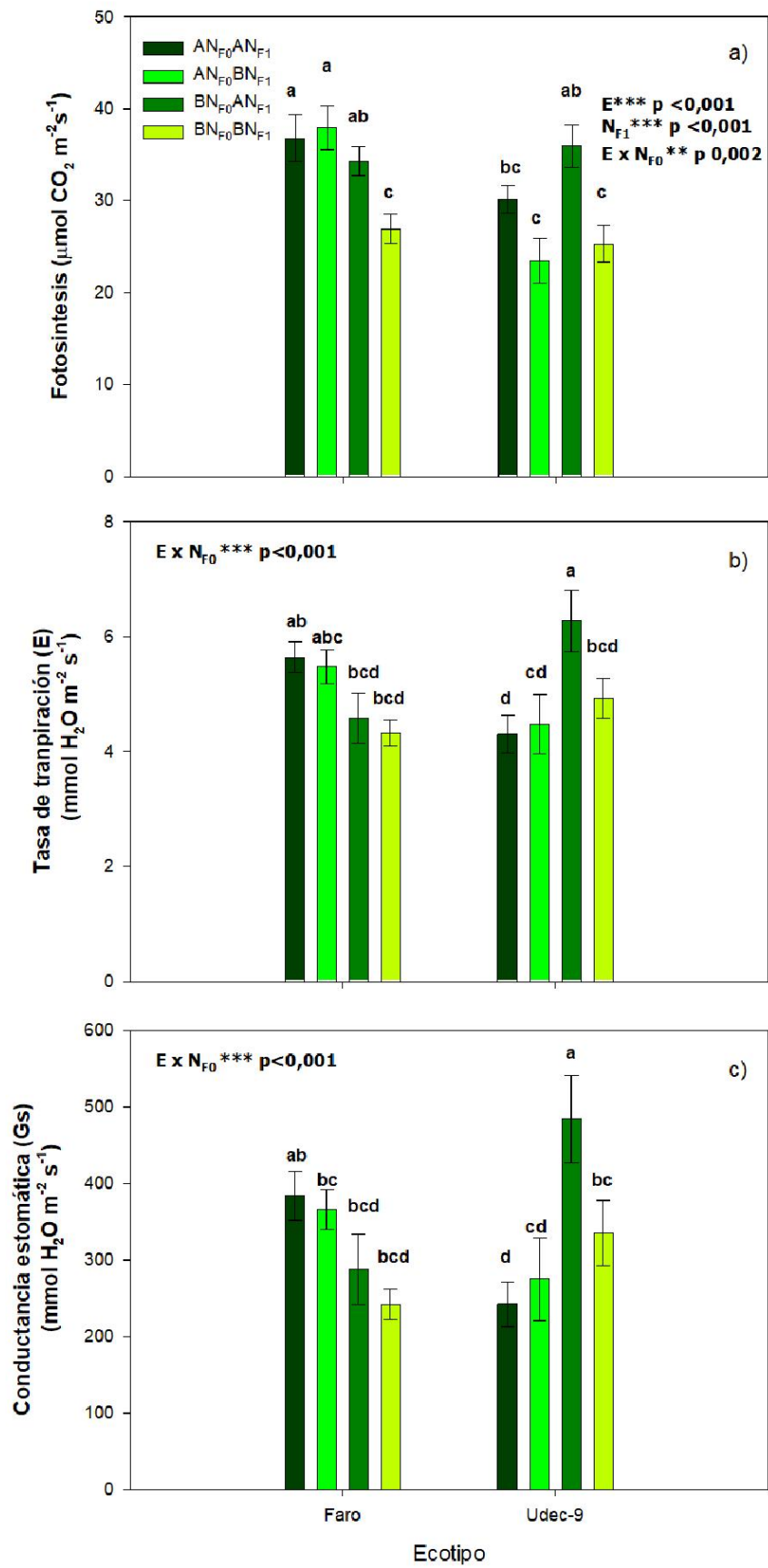


Figura 1. Fotosíntesis, Transpiración y Conductancia estomática de plántulas hijas de madres crecidas a AN y BN determinados a los 40 días de crecimiento. A) Tasa de fotosíntesis neta. B) Tasa de transpiración. C) Conductancia estomática. Las barras muestran los valores de media \pm E.E ($n = 5$). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).

En la **Figura 2** se muestran los índices de eficiencia hídrica a nivel foliar. Tanto la *i*WUE como la WUE a nivel foliar mostraron interacciones triples significativas ($E \times N_{F0} \times N_{F1}$: $p = 0.002$ y $p < 0.001$, respectivamente) (**Tabla 1**), lo que refleja una compleja regulación respecto al ecotipo, el historial parental y el ambiente actual en la eficiencia del uso del agua a nivel foliar. La eficiencia intrínseca del uso de agua (*i*WUE, **Figura 2B**) fue mayor en $BN_{F0}AN_{F1}$ de Faro y en $AN_{F0}AN_{F1}$ de UdeC-9. En general, los tratamientos Faro mostraron *i*WUE más altos que UdeC-9. La eficiencia en el uso de agua (WUE, **Figura 2C**) siguió un patrón similar, con $BN_{F0}AN_{F1}$ de Faro y $AN_{F0}AN_{F1}$ de UdeC-9 como los tratamientos más eficientes.

En Faro no se observan diferencias estadísticamente significativas en la eficiencia en el uso del agua (WUE) entre los tratamientos expuestos por primera vez al déficit de nitrógeno (BN_{F1}) y aquellos bajo condiciones óptimas (AN_{F1}), en UdeC-9 sí se detecta una disminución significativa en el WUE bajo estrés por nitrógeno. Esto sugiere que UdeC-9 es sensible tanto al estrés inmediato de nitrógeno como al estrés ancestral transmitido por la planta madre, incluso cuando las plántulas crecen en condiciones de alto nitrógeno (AN_{F1}), el WUE se mantiene bajo si la madre experimentó déficit (BN_{F0}). Por el contrario, en Faro, las plántulas descendientes de madres estresadas (BN_{F0}) no muestran una reducción significativa en el WUE respecto a las descendientes de madres no estresadas (AN_{F0}), lo que indicaría una capacidad superior para amortiguar los efectos del estrés intergeneracional y mantener la eficiencia hídrica independientemente del historial nutricional parental. Esta divergencia afirma el menor impacto del efecto materno en Faro respecto UdeC-9 ante el déficit de nitrógeno de las madres y del actual.

La eficiencia en el uso del agua a nivel de planta completa (WUE) (**Figura 2A**), estuvo influenciada por los tres factores principales (E : $p = 0.001$; N_{F0} : $p = 0.004$; N_{F1} : $p = 0.013$) (**Tabla 1**) y mostró una interacción significativa entre nitrógeno parental y actual ($N_{F0} \times$

N_{F1} : $p = 0.014$) (**Tabla 1**), reforzando el efecto acumulativo del estrés nitrogenado sobre la eficiencia productiva.

En este análisis se evaluó la producción de biomasa seca total entre los litros de agua total consumidos por las plantas. Los tratamientos descendientes de AN en Faro y los crecidos en AN en UdeC-9 presentaron los valores más altos. Faro mostró en promedio una WUE superior a UdeC-9.

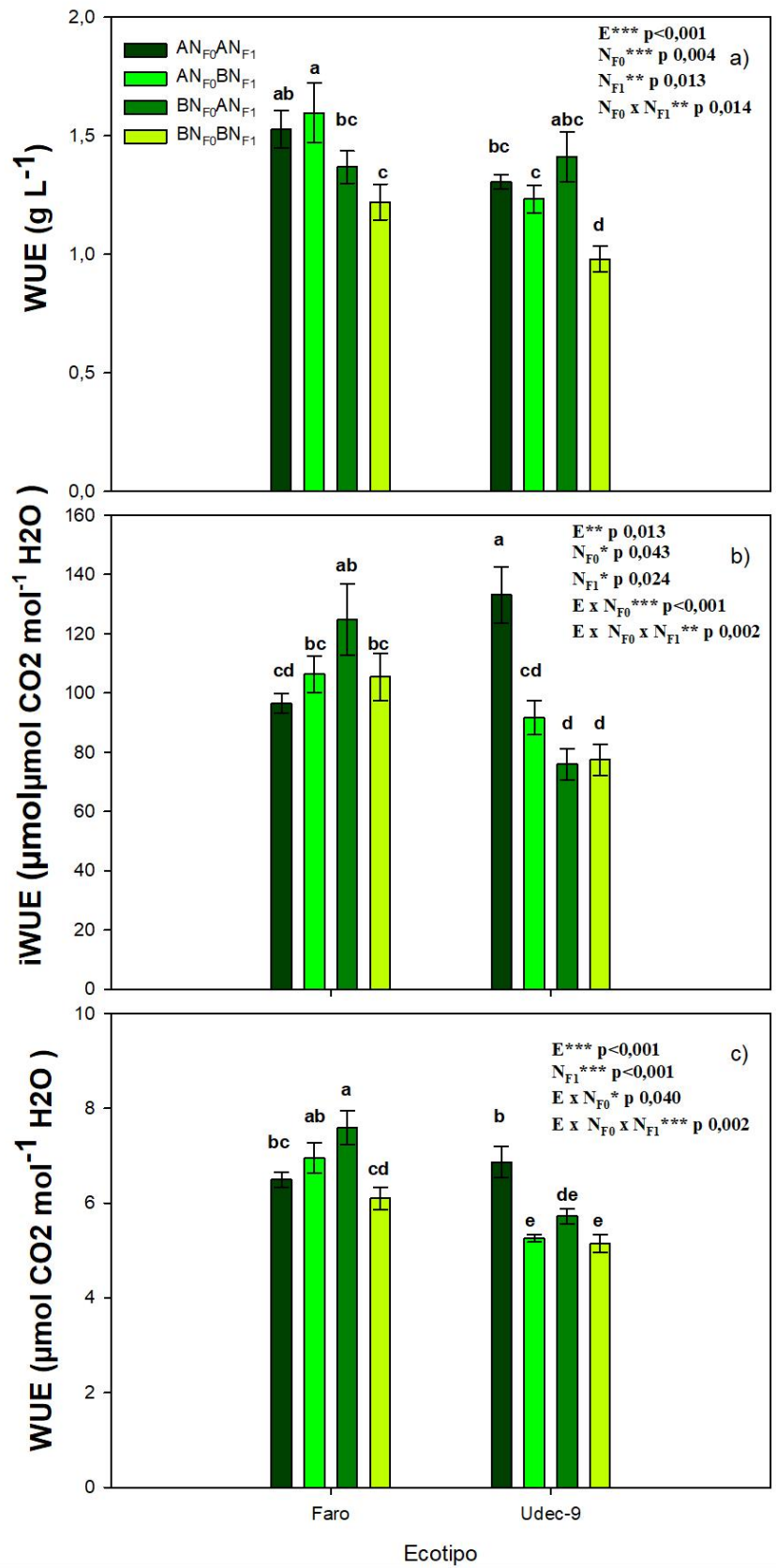


Figura 2. Parámetros de la eficiencia hídrica a nivel de hoja de plántulas hijas de madres crecidas a AN y BN. A) Eficiencia en el uso del agua (WUE) (medida como gramos de biomasa producida frente a los litros de agua consumida). B) Eficiencia intrínseca en el uso del agua C) Eficiencia instantánea en el uso del agua. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).

A los 10 días después de germinadas las plantas (**Figura 3A**) se pueden observar diferencias significativas, mientras que en Faro no hay una gran diferencia entre los tratamientos, en UdeC-9 se puede observar que el tratamiento $BN_{F0}BN_{F1}$ tiene una mayor evapotranspiración que el resto de los tratamientos de este ecotipo, sin embargo, a medida que avanza el tiempo, las diferencias entre la evapotranspiración entre los tratamientos de UdeC-9 van disminuyendo, de manera tal que a los 40 días de germinadas las plantas (**Figura 3D**) las diferencias entre los tratamientos de UdeC-9 han desaparecido, no habiendo diferencias significativas entre ellos, situación que se presenta de manera similar en Faro, aunque en este tratamiento aún se pueden observar diferencias significativas, especialmente en el tratamiento $BN_{F0}AN_{F1}$, el cual mantuvo la menor tasa de evapotranspiración a lo largo del periodo de estudio.

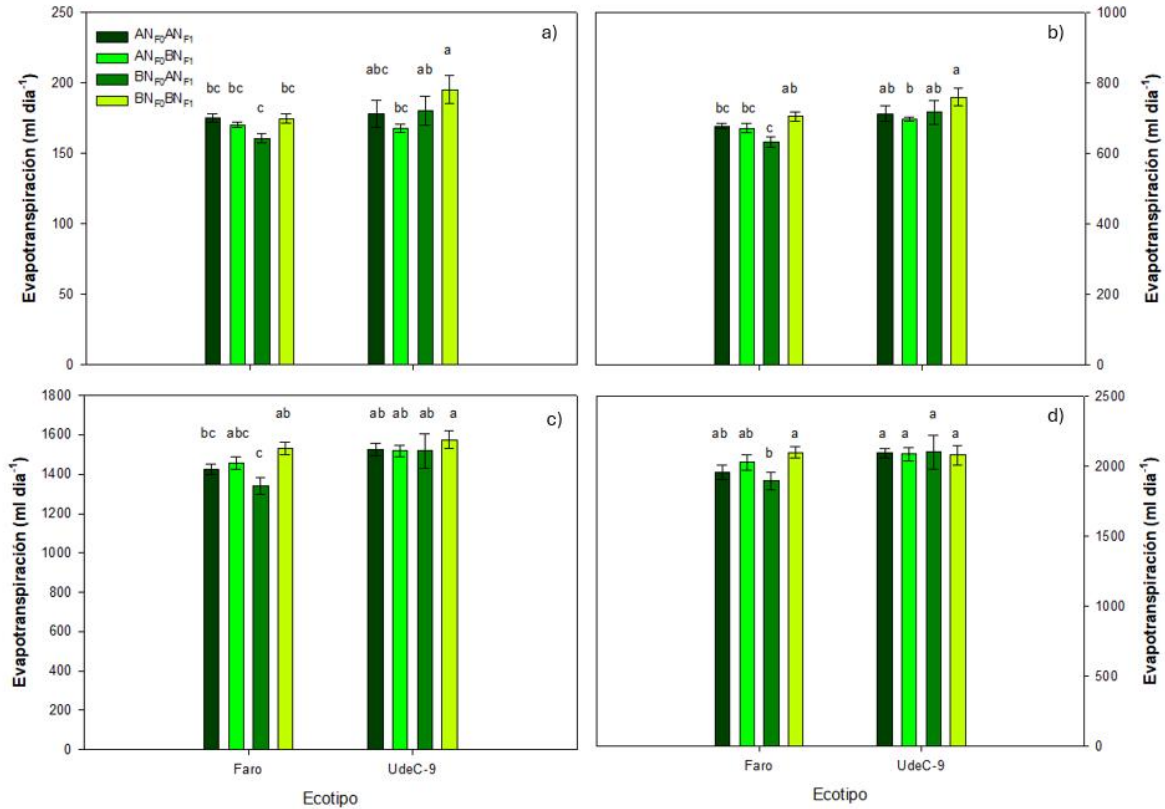


Figura 3. Evapotranspiración acumulada durante el periodo noviembre, 2024 hasta enero, 2025. A) evapotranspiración acumulada hasta los 10 días, B) 20 días, C) 30 días, D) 40 días. Las barras muestran los valores de media \pm E.E ($n = 7$). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).

La **Figura 4** refleja la biomasa acumulada al momento de la cosecha. La biomasa aérea mostró interacciones significativas entre ecotipo y nitrógeno actual ($E \times N_{F1}$: $p = 0.008$) y entre nitrógeno parental y actual ($N_{F0} \times N_{F1}$: $p = 0.014$). La biomasa radicular presentó una interacción triple ($E \times N_{F0} \times N_{F1}$: $p = 0.037$) (**Tabla 1**), destacando la sensibilidad del sistema radicular a las señales nutricionales intergeneracionales. La biomasa aérea (**Figura 4A**) fue significativamente mayor en Faro, especialmente en AN_{F0}BN_{F1}, que superó en un 39,7% a BN_{F0}BN_{F1} de UdeC-9. La biomasa radicular (**Figura 4B**) fue mayor en AN_{F0}AN_{F1} de Faro, con un 32,5% más que en UdeC-9. En ambos ecotipos, los tratamientos descendientes de AN tendieron a producir mayor biomasa que los descendientes de BN.

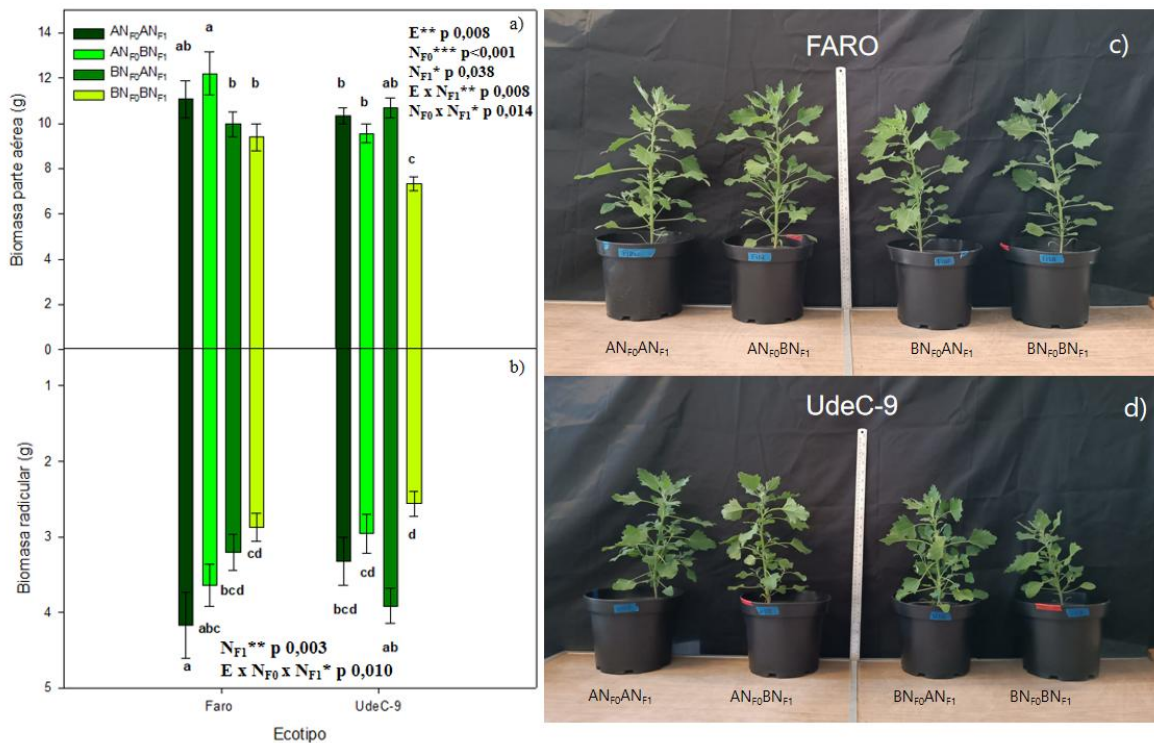


Figura 4. Biomasa aérea y radicular de las plantas hijas de Faro y UdeC-9 a los 120 días de crecimiento. A) Biomasa de la parte aérea (tallo, hoja y panoja). B) Biomasa de la parte radicular. C) Ecotipo Faro a los 40 días D) Ecotipo UdeC-9 a los 40 días. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).

La **Figura 5A**, muestra el rendimiento reproductivo de las plantas, para el número de semillas mostró un efecto principal del nitrógeno parental (N_{F0} : $p = 0.01$), pero sin interacciones significativas, sugiriendo que el número de semillas producidas por cada planta responde directamente al estrés ancestral independientemente del ecotipo o el nitrógeno actual.

El número de semillas por planta (**Figura 5B**) fue superior en los tratamientos descendientes de AN, especialmente en $AN_{F0}AN_{F1}$ de Faro, que produjo ≈ 700 semillas más que $BN_{F0}BN_{F1}$ del mismo ecotipo. El peso total de semillas (**Figura 5A**) fue mayor en $AN_{F0}BN_{F1}$ y $BN_{F0}AN_{F1}$ de Faro. El peso de 100 semillas (**Figura 5C**) fue menor en los tratamientos $AN_{F0}AN_{F1}$ de ambos ecotipos, lo que parece sugerir la existencia de un trade-off entre el número y el tamaño de semillas producidas.

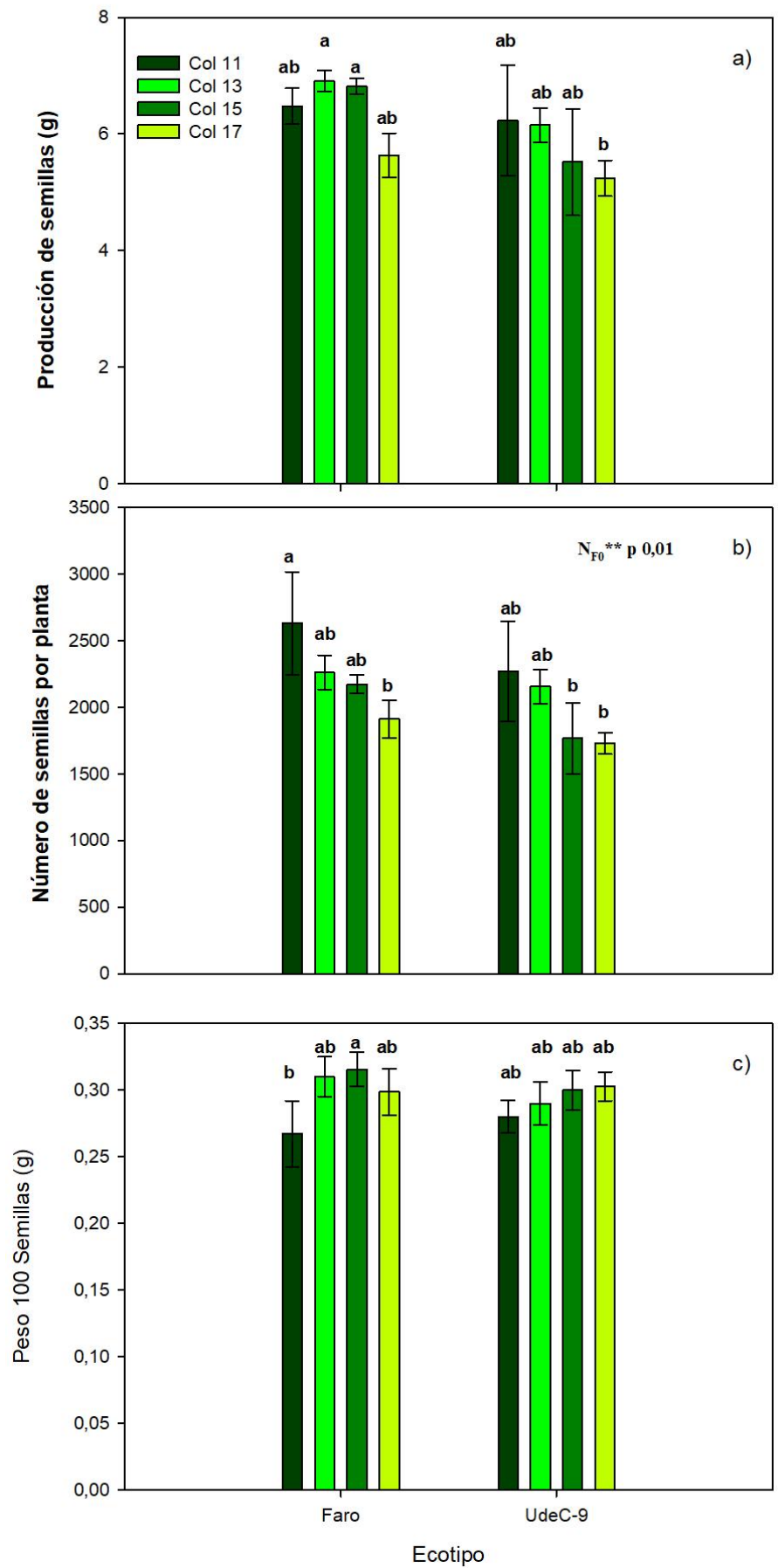


Figura 5. Componentes del rendimiento en plantas hijas de madres de *C. quinoa* crecidas a AN y BN. C) Gramos de semillas producidos. D) Número de semillas promedio producido por planta. E) Peso en gramos de 100 semillas. Las barras muestran los valores de media \pm E.E ($n = 7$). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).

Para el caso de la **Figura 6**, ambos NUE (**Figura 6 A,B**) disminuyen cuando tienen un parental de BN, y crecieron en condiciones de BN actual ($BN_{F0}BN_{F1}$) mientras que en todos los tratamientos creciendo en AN actual, no presentaron diferencias significativas, además de esto, se observa claramente que, el ecotipo Faro, se mantiene como el ecotipo con mayor NUE entre estos.

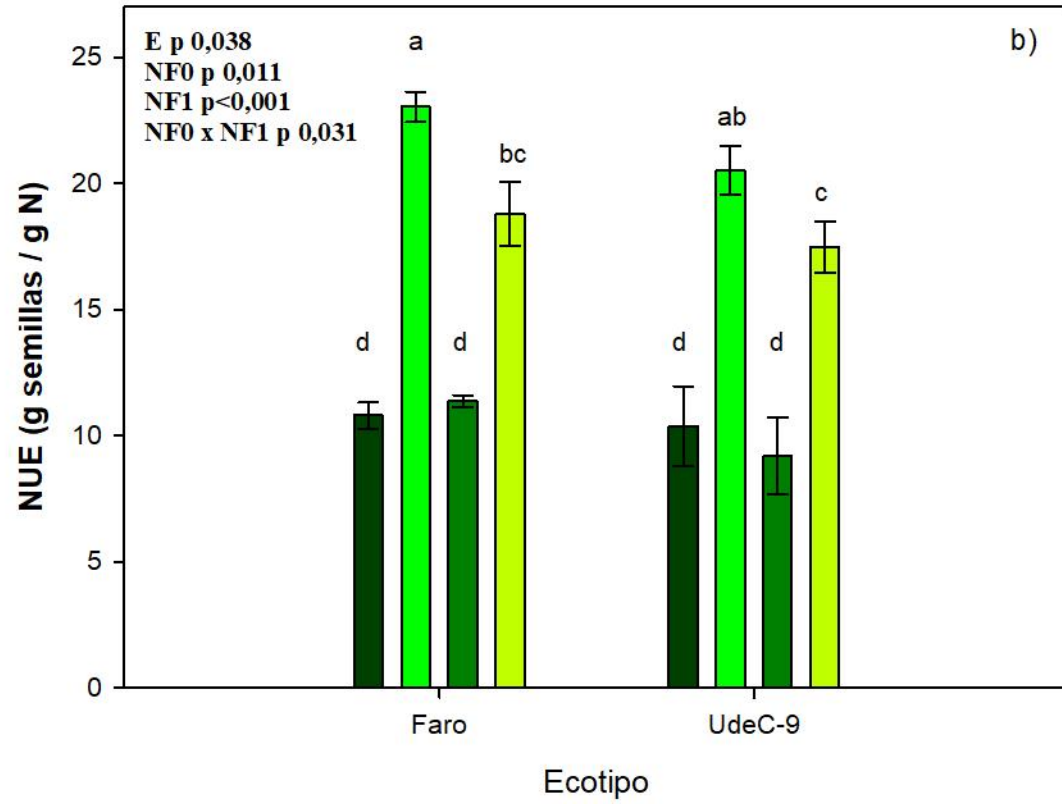
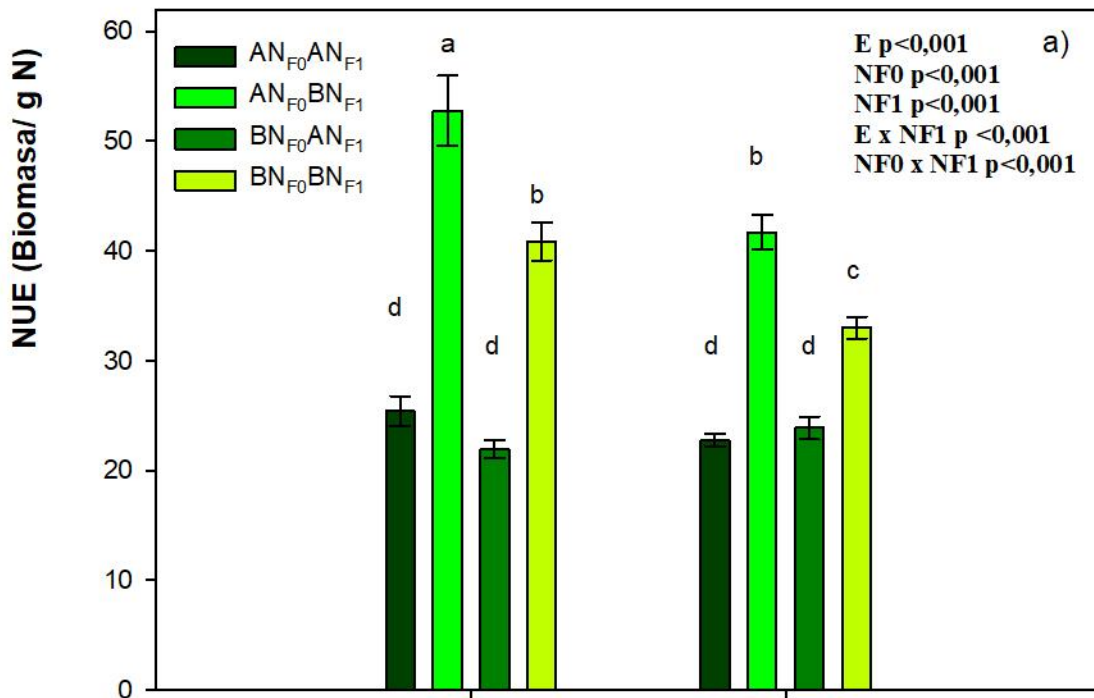


Figura 6. Eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE) A) Gramos de biomasa seca entre gramos de N utilizadas y B) Gramos de semillas entre gramos de N utilizado. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 7). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el ecotipo, aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc ($p < 0,05$).

El análisis estadístico de ANOVA de tres vías reveló que los factores Ecotipo (E) y Nitrógeno Actual (N_{F1}) son altamente significativos para la mayoría de los parámetros fisiológicos analizados, incluyendo la fotosíntesis neta (Pn), la eficiencia en el uso del agua a nivel foliar (WUE) y de planta completa, así como la biomasa aérea. Esto resalta la marcada influencia de la identidad genética y las condiciones ambientales inmediatas en el desempeño de las plantas. De manera crucial, el factor Nitrógeno Parental (N_{F0}) también demostró un efecto principal significativo, particularmente en el número de semillas producidas, lo que evidencia un efecto materno directo sobre el rendimiento reproductivo.

Además de estos efectos, se detectaron otras interacciones significativas, como la interacción entre el Ecotipo y el Nitrógeno Parental (E x N_{F0}), que fue determinante en los procesos de intercambio gaseoso (Pn, gs, E) y la eficiencia intrínseca del uso del agua (iWUE). Asimismo, la interacción entre el Nitrógeno Parental y el Actual (N_{F0} x N_{F1}) afectó significativamente la biomasa aérea y la WUE a nivel de planta completa, lo que podría indicar un efecto acumulativo del estrés nitrogenado entre generaciones. Finalmente, interacciones triples significativas (E x N_{F0} x N_{F1}) para la iWUE, WUE foliar y biomasa radicular, demuestran que la combinación única de genotipo, historial parental y ambiente actual define respuestas fisiológicas complejas y específicas.

	Ecotipo	Nitrógeno _{F0}	Nitrógeno _{F1}	E x N _{F0}	E x N _{F1}	N _{F0} x N _{F1}	E x N _{F0} x N _{F1}
Pn	<0,001	0,544	<0,001	0,002	0,153	0,072	0,494
Gs	0,900	0,172	0,241	<0,001	0,725	0,161	0,104
E	0,877	0,562	0,283	<0,001	0,589	0,300	0,138
iWUE	0,013	0,043	0,024	<0,001	0,155	0,515	0,002
WUE	<0,001	0,156	<0,001	0,040	0,106	0,198	<0,001
Biomasa Aérea	0,008	<0,001	0,038	0,222	0,008	0,014	0,594
Biomasa Radicular	0,635	0,842	0,003	0,010	0,062	0,068	0,037
Número de semillas	0,112	0,01	0,233	0,854	0,468	0,781	0,967
Evapo. A. 10 días	0,031	0,302	0,459	0,035	0,809	0,0194	0,712
Evapo. A. 20 días	0,004	0,782	0,034	0,647	0,161	0,085	0,466
Evapotranspiración diaria promedio	0,034	0,829	0,212	0,742	0,15	0,338	0,533
WUE planta c.	<0,001	0,004	0,013	0,092	0,065	0,014	0,539
NUE biomasa	<0,001	<0,001	<0,001	0,091	<0,001	<0,001	0,761
NUE semilla	0,038	0,011	<0,001	0,857	0,679	0,031	0,331

Tabla 1. P- values para los efectos del Ecotipo (E), Nitrógeno materno (N_{F0}) y nitrógeno actual (N_{F1}), y sus interacciones, determinadas mediante análisis de ANOVA de tres vías (three-way ANOVA) a lo largo del ciclo de vida de la planta.

DISCUSIÓN

Los resultados revelaron que la respuesta fisiológica al déficit de nitrógeno está modulada por interacciones significativas entre el ecotipo y el historial nutricional parental ($E \times NF0$), particularmente en la fotosíntesis neta (Pn) (**Figura 1A**) y la conductancia estomática (Gs) (**Figura 1C**). Esta dependencia del genotipo concuerda con estudios previos que destacan la plasticidad fenotípica de *C. quinoa* frente a estrés abiótico (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018a; Castro *et al.*, 2024). Faro mostró ser más conservativa bajo estrés ancestral (BN_{F0}), reduciendo su conductancia estomática para optimizar el uso del agua, mientras que UdeC-9 mantuvo una alta transpiración incluso bajo estrés intergeneracional, lo que sugiere una limitada capacidad de ajuste fino en este ecotipo (Quemada & Gabriel, 2016; Qin, 2015).

El análisis de la eficiencia en el uso del agua a nivel foliar (**Figura 2**) revela un patrón diferencial entre ecotipos que contrasta las capacidades de acoplamiento entre el metabolismo del nitrógeno y el balance hídrico. Como señalan Quemada & Gabriel (2016), existe una interconexión fisiológica fundamental entre la asimilación de nitrógeno y la eficiencia en el uso del agua (WUE), donde plantas con mayor eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE) suelen exhibir también una WUE superior. Los resultados son consistentes con este principio en el ecotipo Faro, el cual mantuvo valores de WUE estables sin diferencias estadísticamente significativas grandes entre tratamientos, independientemente del historial nutricional parental o las condiciones actuales. Esto sugiere la existencia de mecanismos de resistencia presentes en Faro, capaces de amortiguar el impacto del estrés por déficit de nitrógeno sobre el balance hídrico, posiblemente mediante un control estomático más eficiente y una mejor coordinación entre la asimilación de carbono y la pérdida de agua (Flexas *et al.*, 2020). Por el contrario, el ecotipo UdeC-9 mostró una marcada sensibilidad, donde el déficit de nitrógeno tanto actual

(BN_{F1}) como ancestral (BN_{F0}) redujo significativamente la WUE. Incluso bajo condiciones óptimas actuales (AN_{F1}), la progenie de madres estresadas no logró recuperar los niveles de eficiencia hídrica. Esto sugiere una limitada capacidad para desacoplar el estrés por nitrógeno del balance hídrico, resultando en una estrategia fisiológica menos eficiente. La respuesta observada en UdeC-9 se alinea con lo reportado por Qin (2015), donde la baja eficiencia fotosintética bajo déficit de N conduce a un desbalance en el uso del agua, lo que sugiere que su eficiencia depende más de condiciones óptimas actuales que de un efecto materno.

La discrepancia entre la WUE medida a nivel foliar (instantánea) y la WUE a nivel de planta completa subraya la diferente escala temporal y funcional que representan estos índices (Flexas *et al.*, 2020). La WUE foliar captura el balance instantáneo entre la asimilación de CO₂ y la pérdida de agua por transpiración en condiciones ambientales específicas durante la medición. En cambio, la WUE a nivel de planta integra todo el ciclo de vida, incluyendo procesos no fotosintéticos como la respiración, la senescencia foliar, la asignación de carbono a raíces y la eficiencia de producción de semillas (Hoover *et al.*, 2023). Un tratamiento puede mostrar una WUE foliar alta si, en el momento de la medición, presenta un cierre estomático eficiente, pero esto podría traducirse en una tasa de crecimiento más lenta y, en consecuencia, en una WUE a nivel de planta menor. Por el contrario, una WUE foliar moderada pero sostenida, combinada con una larga duración del área foliar fotosintéticamente activa y una baja respiración de mantenimiento, puede resultar en una WUE a nivel de planta alta (Long, 1991). Esta distinción es crucial para interpretar correctamente las estrategias de las plantas: la WUE foliar refleja la eficiencia momentánea, mientras que la WUE a nivel de planta refleja la productividad y supervivencia a largo plazo.

El crecimiento y la asignación de biomasa (**Figura 4 A y B**) revela patrones contrastantes en la asignación de recursos estructurales entre ecotipos, evidenciando diferentes prioridades bajo estrés nitrogenado intergeneracional. La reducción generalizada de biomasa aérea y radicular bajo déficit de nitrógeno actual (BN_{F1}) concuerda con lo reportado ampliamente en la literatura, donde la limitación de N restringe el crecimiento al

afectar la síntesis de proteínas y la expansión celular (Lemaître *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2013; Mu & Chen, 2021). Sin embargo, la influencia del historial nutricional parental (F0) fue ecotipo-específica. En UdeC-9, la biomasa mostró una dependencia acumulativa del estrés, donde el tratamiento $BN_{F0}BN_{F1}$ presentó los valores más bajos, reflejando una sensibilidad marcada tanto al estrés inmediato como ancestral. Esta respuesta coincide con estudios en especies sensibles donde el estrés nutricional parental deprime irreversiblemente el crecimiento de la progenie (Liu *et al.*, 2021; Van Dooren *et al.*, 2020). Las diferencias morfológicas observadas a los 40 días de crecimiento (**Figura 4 C y D**) proporcionan el contexto fenotípico para interpretar las respuestas fisiológicas y de productividad observadas. El ecotipo Faro mostró una morfología más robusta para la mayoría de los tratamientos, lo que sugiere una asignación de recursos más eficiente hacia el crecimiento aéreo. En contraste, UdeC-9 exhibió una mayor variabilidad en respuesta al estrés nitrogenado, con plantas de menor tamaño y desarrollo más afectado en los tratamientos con déficit, especialmente en $BN_{F0}BN_{F1}$. Estas disparidades morfológicas iniciales son consistentes con la conocida plasticidad de *C. quinoa* y muestran las diferencias en eficiencia fotosintética y uso de agua que se discuten a continuación (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018a; Fuentes *et al.*, 2012). La arquitectura más robusta de Faro, incluso bajo estrés, sugiere una mayor capacidad para mantener el desarrollo estructural, lo que probablemente sustenta su superior desempeño fisiológico y productivo durante su ciclo de vida.

Por el contrario, el ecotipo Faro demostró una notable capacidad de compensación. El tratamiento $BN_{F0}AN_{F1}$ alcanzó niveles de biomasa aérea y radicular estadísticamente equivalentes a los del tratamiento óptimo ($AN_{F0}AN_{F1}$), lo que sugiere la activación de mecanismos de resiliencia que mitigan el impacto del estrés ancestral cuando las condiciones actuales son favorables. Esta plasticidad adaptativa ha sido asociada con una mayor inversión en el sistema radicular, mejorando la exploración del suelo y la eficiencia de adquisición de recursos bajo estrés (Nacry *et al.*, 2013; Bascañán-Godoy *et al.*, 2018b). La robustez del sistema radicular de Faro, evidente en su mayor biomasa radicular relativa, es un rasgo clave documentado en genotipos con alta eficiencia en el uso de nitrógeno

(NUE), que favorece no solo la captación de N sino también de agua, mejorando la tolerancia integrada a estrés múltiple (Garnett *et al.*, 2009; Quemada & Gabriel, 2016).

El rendimiento reproductivo (**Figura 5**) revela una influencia parental distinta entre ecotipos. Contrario a lo esperado, en Faro el mayor peso total de semillas no se obtuvo en el tratamiento óptimo continuo ($AN_{F0}AN_{F1}$), sino en $BN_{F0}AN_{F1}$, donde plantas hijas crecidas en alto nitrógeno provenientes de madres estresadas superaron en rendimiento a las de madres no estresadas. Esto sugiere un efecto de compensación intergeneracional: el estrés por déficit de nitrógeno ancestral potenció la capacidad reproductiva cuando las condiciones actuales fueron favorables, posiblemente mediante una reprogramación metabólica que optimizó la asignación de recursos a semillas (Castro *et al.*, 2024). En cambio, en UdeC-9 el rendimiento dependió marcadamente del historial parental, con valores mínimos en $BN_{F0}BN_{F1}$ y sin evidencia de compensación en $BN_{F0}AN_{F1}$, reflejando una menor plasticidad reproductiva. El patrón de trade-off entre el número de semillas y su peso individual (**Figura 5B vs 5C**) fue consistente en ambos ecotipos: los tratamientos con mayor número de semillas ($AN_{F0}AN_{F1}$) mostraron un menor peso por semilla, mientras que aquellos con menor número ($BN_{F0}BN_{F1}$) invirtieron en semillas más pesadas, estrategia documentada como adaptación para asegurar la viabilidad de la progenie bajo estrés (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018a).

El estado hídrico de los tejidos (**Figura suplementaria 2**) y los patrones de evapotranspiración (**Figura 3**) deben interpretarse considerando las adaptaciones a sequía de la quinoa. El porcentaje de agua obtenido en la **Figura suplementaria 2A** puede ser consecuencia de esta adaptación, ya que, mediante la reducción de su superficie foliar, células con paredes pequeñas y gruesas que preservan la turgencia, la regulación de los estomas, y la presencia de vesículas que contienen oxalato de calcio (que podría reducir la transpiración), la quinoa muestra una notable tolerancia (Jensen *et al.*, 2000; Jacobsen y Mujica, 2001). Es probable que los resultados varíen en distintos periodos, ya que la quinoa puede escapar de la sequía mediante precocidad (ecotipos tempranos) y por su bajo potencial osmótico y capacidad para mantener turgencia (Jacobsen *et al.*, 2003). La menor evapotranspiración diaria de Faro bajo condiciones AN está en línea con su mayor WUE a

nivel de planta completa (**Figura 3A**). El hecho de que el consumo total de agua no mostrara diferencias significativas a lo largo del ciclo es crucial: indica que las plantas ajustan su uso diario del agua (evapotranspiración) sin alterar necesariamente el volumen total consumido.

El de la evapotranspiración acumulada (**Figura 3**) reveló un patrón de ajuste fisiológico entre ecotipos que complementa la evaluación del estado hídrico (**Figura suplementaria 2**). En el ecotipo UdeC-9, se observó una marcada asincronía en la respuesta inicial, donde el tratamiento con estrés intergeneracional y actual ($BN_{F0}BN_{F1}$) mostró una evapotranspiración significativamente mayor a los 10 días. Sin embargo, esta diferencia se atenuó progresivamente hasta homogenizarse hacia el día 40, lo que sugiere una aclimatación tardía posiblemente mediada por un cierre estomático reactivo. Este patrón se alinea con lo observado en genotipos sensibles, donde la respuesta estomática al estrés nutricional es más lenta y menos eficiente (Quemada & Gabriel, 2016; Lawlor & Cornic, 2002). Por el contrario, el ecotipo Faro exhibió una regulación más estable y coordinada desde etapas tempranas, con el tratamiento $BN_{F0}AN_{F1}$ manteniendo consistentemente una de las menores tasas de evapotranspiración a lo largo del ciclo. Esta capacidad de Faro para una regulación sostenida de la pérdida de agua refleja un control estomático más fino y una mejor coordinación entre la adquisición de CO_2 y la pérdida de agua, mecanismos asociados a una alta eficiencia en el uso de recursos (Flexas *et al.*, 2016; Lawson & Blatt, 2014). Esto refuerza su mayor WUE a nivel de planta completa (**Figura 2A**) y su resistencia. En conjunto, estos resultados indican que, si bien el consumo hídrico total puede no variar significativamente al final del ciclo de vida de la planta (**Figura 3D**), los distintos estadios durante su ciclo de vida y la eficiencia en el uso del agua durante el desarrollo son determinantes clave del desempeño final (Sadras & Milroy, 1996), destacando la superior habilidad de Faro para optimizar el uso del recurso hídrico bajo la influencia del estrés nitrogenado intergeneracional.

La marcada diferencia en la eficiencia en el uso del agua a nivel de planta completa (WUE), a pesar de un consumo hídrico total similar entre tratamientos, puede explicarse por la naturaleza integral de este parámetro. Mientras que el consumo total de agua integra las

pérdidas por evaporación desde el sustrato y transpiración a lo largo de todo el ciclo, la WUE a nivel de planta relaciona este consumo con la biomasa seca total producida (Hoover et al., 2023). Por lo tanto, las diferencias observadas no se originan en el volumen de agua utilizado, sino en la eficiencia con la que ésta se convierte en biomasa. Los tratamientos con mayor WUE, particularmente los descendientes de AN en Faro, lograron una mayor asignación de carbono a tejidos estructurales (biomasa aérea y radicular, **Figura 4**) por unidad de agua transpirada. Esto sugiere la existencia de mecanismos de optimización del crecimiento que trascienden el balance hídrico diario, como una mayor eficiencia fotosintética integrada en el tiempo, una menor respiración nocturna o una mejor partición de asimilados (Long, 1991; Quemada & Gabriel, 2016). En otras palabras, Faro no utilizó menos agua en total, sino que produjo significativamente más biomasa con la misma cantidad de agua, lo que constituye el núcleo de una mayor WUE a nivel de planta.

La detección de interacciones triples ($E \times N_{F0} \times N_{F1}$) en la eficiencia hídrica foliar (iWUE y WUE) y la biomasa radicular indica que el efecto materno actúa de forma aislada, sino que depende de la combinación específica de genotipo, historial parental y condiciones actuales. Esto respalda la noción de que la 'memoria' del estrés es un fenómeno contextual y dinámico (Crisp et al., 2016; Lämke & Bäurle, 2017). En Faro, la interacción triple sugiere una capacidad de integración de señales que le permite mantener la eficiencia bajo estrés recurrente, mientras que en UdeC-9 la respuesta más rígida refleja una menor flexibilidad adaptativa.

Las diferencias observadas entre los resultados de este estudio y los reportados por Castro *et al.* (2024) podrían atribuirse a las distintas condiciones de crecimiento y distinta fuente de nitrógeno utilizada. Mientras que Castro *et al.* (2024) usó cámaras de condiciones climáticas controladas y emplearon nitrato de amonio (NH_4NO_3), que proporciona iones de amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) de disponibilidad inmediata, en este trabajo se utilizó urea [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$], la cual requiere una hidrólisis previa mediada por la enzima ureasa para liberar amonio asimilable (Witte, 2011; Merigout *et al.*, 2008). Esta diferencia en la dinámica de disponibilidad del nutriente puede modular respuestas fisiológicas distintas, ya que la urea induce patrones de expresión génica y señales hormonales específicas que afectan la

eficiencia de asimilación de nitrógeno y la homeostasis hídrica (Liu *et al.*, 2003; Merigout *et al.*, 2008). Por ejemplo, estudios en *Arabidopsis* han demostrado que la urea como fuente de N altera la expresión de genes relacionados con acuaporinas y el balance abscísico, lo que podría explicar variaciones en la eficiencia del uso del agua (WUE) entre ambos estudios (Kojima *et al.*, 2007). Así, la elección de la fuente nitrogenada no solo impacta la disponibilidad temporal del nutriente, sino también las vías de señalización que subyacen a al efecto materno.

Los resultados de la eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE, **Figura 6**) muestran el contraste fisiológico entre los ecotipos y el impacto negativo del estrés por déficit de N intergeneracional. La NUE consistentemente superior del ecotipo Faro, incluso bajo condiciones de estrés ($BN_{F0}BN_{F1}$), confirma su capacidad para producir más biomasa y semillas por unidad de N disponible, un rasgo previamente documentado en este ecotipo de alta NUE (Bascañán-Godoy *et al.*, 2018a, 2018b). Por el contrario, la disminución de la NUE en UdeC-9 bajo el tratamiento con estrés ancestral y actual ($BN_{F0}BN_{F1}$) evidencia su mayor sensibilidad. Resulta crucial que, incluso cuando las plantas hijas crecieron en condiciones óptimas de N (AN_{F1}), los descendientes de madres estresadas (BN_{F0}) mostró una tendencia a una NUE reducida, lo que sugiere una maladaptación transmitida por vía materna. Este hallazgo se alinea con estudios que reportan que el estrés nutricional parental puede alterar el desempeño de la descendencia, posiblemente a través de mecanismos de memoria epigenética que afectan la eficiencia metabólica (Liu *et al.*, 2021; Castro *et al.*, 2024). En conjunto, estos resultados demuestran que el déficit de N materno no solo afecta el balance hídrico, sino que también puede comprometer la eficiencia en el uso de este nutriente en la generación siguiente, siendo este efecto más pronunciado en el ecotipo con menor NUE intrínseca (UdeC-9).

Los parámetros de fluorescencia de la clorofila muestran la resistencia del aparato fotosintético de *Chenopodium quinoa*. La ausencia de diferencias significativas en la eficiencia cuántica máxima del PSII ($F_v/F_m > 0.75$) en la mayoría de los tratamientos (**Figura suplementaria 1A**) sugiere que el estrés por déficit de N de la madre no afectó el desempeño fotoquímico ni fotosintético, lo que es consistente con la conocida tolerancia de

esta especie al estrés abiótico (Jacobsen *et al.*, 2003; Bascuñán-Godoy *et al.*, 2018a). Sin embargo, la estabilidad de Fv/Fm bajo estrés leve o moderado puede deberse a que este parámetro es principalmente un indicador de integridad estructural del PSII, siendo menos sensible a ajustes fisiológicos tempranos (Maxwell & Johnson, 2000). La verdadera sensibilidad de la técnica se manifiesta en parámetros como el *quenching* no fotoquímico (NPQ) y la tasa de transporte de electrones (ETR), que capturan respuestas adaptativas finas. Las diferencias significativas observadas en NPQ y ETR (**Figuras suplementaria 1B y 1D**) indican que, si bien el PSII mantuvo su integridad, los mecanismos de disipación de energía y eficiencia fotoquímica se ajustaron de manera diferencial según el historial de nitrógeno. Esto confirma que la quinoa no solo evita el daño fotooxidativo, sino que regula activamente su maquinaria fotosintética mediante mecanismos como el control estomático y la disipación térmica (Shi *et al.*, 2014; Bascuñán-Godoy *et al.*, 2018a), siendo estos últimos más sensibles para detectar estrés. Los resultados obtenidos en este trabajo, que contrastan con los obtenidos por Castro *et al.*, 2024, pueden ser ocasionados por la diferencia en la fuente de N, debido a que, a diferencia del Nitrato de amonio, la urea puede ser hidrolizada por microorganismos libres en el sustrato, provocando una competencia entre las plantas y estos microorganismos por la absorción de esta forma de N. (Coskun *et al.* 2017; Buscardo *et al.*, 2022).

CONCLUSIÓN

Este estudio evaluó la hipótesis de que, bajo condiciones de bajo nitrógeno (BN_{F1}), las plantas hijas de BN_{F0} presentarían una menor eficiencia en el uso del agua (WUE) que aquellas provenientes de madres crecidas en alto nitrógeno (AN), siendo este efecto más notable en el ecotipo UdeC-9.

WUE a nivel de planta completa, que relaciona la biomasa total producida con el agua consumida durante todo el ciclo de vida de la especie en ambos ecotipos, el tratamiento con estrés intergeneracional y actual ($BN_{F0}BN_{F1}$) mostró la WUE significativamente más baja en comparación con los tratamientos donde la madre creció en AN (AN_{F0}). Esto demuestra que el estrés ancestral por déficit de N reduce la eficiencia en el uso de agua a nivel de planta completa de la descendencia cuando esta enfrenta la misma limitación, lo que se encuentra en línea con nuestra hipótesis.

Por otro lado, los resultados de WUE a nivel foliar refuerzan la conclusión general aunque fueron ecotipo-específicos. En UdeC-9, la WUE foliar fue significativamente menor en el tratamiento $BN_{F0}BN_{F1}$. En Faro, la WUE foliar no mostró grandes diferencias significativas bajo estrés (BN_{F1}) entre descendientes de madres AN y BN. Esto indicaría que Faro posee mecanismos fisiológicos (como un control estomático más eficiente) para mantener la eficiencia del uso del agua a nivel de la hoja a corto plazo. Sin embargo, esta capacidad de compensación a nivel foliar no fue suficiente para evitar una merma en la eficiencia a nivel de planta completa a lo largo de su ciclo de vida.

Esta respuesta fue más notoria en UdeC-9, el ecotipo con menor NUE, tal como fue indicado en la hipótesis. Este ecotipo mostró la mayor disminución en WUE a nivel de planta completa y una clara sensibilidad a nivel foliar. Por su parte, Faro demostró una mayor resiliencia, evidenciada por sus valores generales más altos de WUE y su capacidad de amortiguar el impacto a nivel foliar, pero finalmente no pudo eludir las consecuencias negativas del estrés intergeneracional sobre su productividad final.

Se concluye que la hipótesis es aceptada: el estrés por N materno reduce la WUE a nivel de planta completa y bajo condiciones actuales de limitación por N, este efecto resulta

incrementado en UdeC-9 (efecto es ecotipo-específico). Por otro lado, Faro despliega mecanismos que mitigan parcialmente el impacto del estrés heredado, mientras que UdeC-9 muestra una mayor vulnerabilidad a este tipo de estrés.

Estos hallazgos destacan la necesidad de considerar interacciones genotipo-ambiente multigeneracionales en programas de mejoramiento vegetal dirigidos a resiliencia climática. Futuros estudios deberán explorar las bases epigenéticas y moleculares subyacentes a estas interacciones, así como también profundizar en las bases moleculares (epigenéticas, hormonales y proteómicas) de este efecto materno para comprender integralmente estos mecanismos de adaptación.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

La **Figura 1** muestra los parámetros de fluorescencia de clorofila medidos a los 14 días después de la germinación. El análisis ANOVA reveló que para Fv/Fm, el factor más relevante para este fue la disponibilidad de nitrógeno actual ($p= 0,019$), mientras que para la tasa de transporte de electrones, (ETR) el factor determinante fue el ecotipo ($p = 0,007$) (**Tabla 1**). Esto indica que estas respuestas tempranas, son independientes del historial nutricional parental. En la **Figura 1A**, la eficiencia cuántica máxima del PSII (Fv/Fm) fue dependiente solamente del N actual de las plantas hijas. El Fv/Fm mostró una leve disminución (4,3%) en el tratamiento AN_{F0}AN_{F1} del ecotipo UdeC-9, mientras que en el resto de los tratamientos se mantuvo dentro de rangos considerados óptimos ($>0,75$). Los parámetros fotoquímicos (qL y ETR) no cambiaron entre los tratamientos. El *quenching* no fotoquímico (NPQ, **Figura 1B**) no fue dependiente ni del N de la madre ni del de las hijas, sólo del E. fue significativamente menor en el tratamiento AN_{F0}AN_{F1} de UdeC-9, con un valor 30,4% inferior al tratamiento BN_{F0}BN_{F1} del mismo ecotipo. Por el contrario, en el ecotipo Faro, los tratamientos mostraron valores similar de NPQ. La fracción de centros de reacción del PSII en estado abierto (qL, **Figura 1C**) no presentó diferencias significativas entre tratamientos ni ecotipos. Sin embargo, la tasa de transporte de electrones (ETR, **Figura 1D**) sí mostró diferencias significativas, siendo mayor en el tratamiento BN_{F0}AN_{F1} de Faro y menor en AN_{F0}BN_{F1} de UdeC-9, con una diferencia del 9,4% entre ellos.

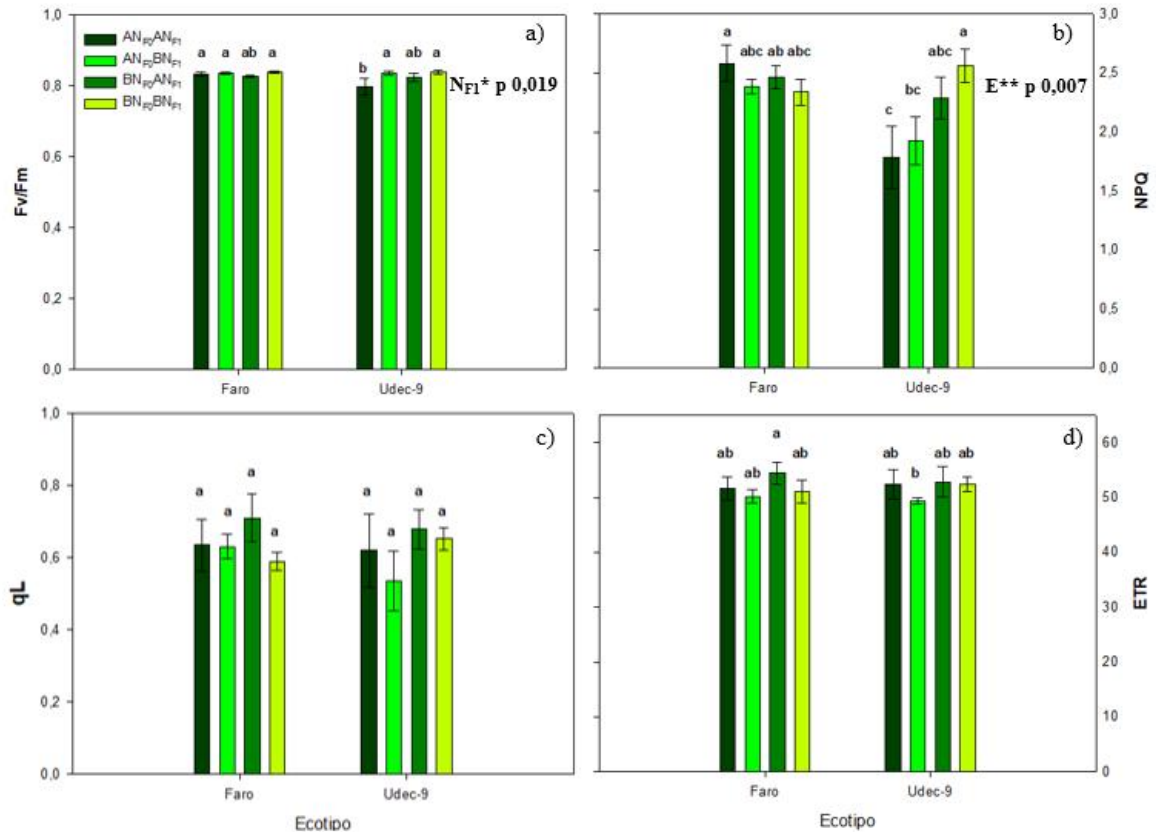


Figura 1. Parámetros de fluorescencia fotoquímica y no fotoquímica realizada a 14 días después de la germinación de las plántulas descendientes de plantas crecidas en condiciones de AN y BN. A). Máxima eficiencia cuántica (Fv/Fm). B) Quenching no fotoquímico (NPO). C) Estimación centros del PSII en un estado abierto (qL) D) Tasa de transporte de electrones (ETR) Las barras muestran los valores de media ± E.E (n = 5). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc (p < 0,05).

El estado hídrico de los tejidos (**Figura suplementaria 2**), en el porcentaje de agua en tejidos aéreos, este varió significativamente entre ecotipos (p = 0.029) (**Tabla 1**), pero no se observaron interacciones con los factores de nitrógeno actual ni ancestral, indicando que la hidratación foliar es principalmente un carácter genético en estas condiciones.

La **Figura suplementaria 2A** indica que el porcentaje de agua en la parte aérea fue mayor en $BN_{F0}AN_{F1}$ y $BN_{F0}BN_{F1}$ de UdeC-9, mientras que en Faro no se observan grandes diferencias significativas entre los tratamientos.

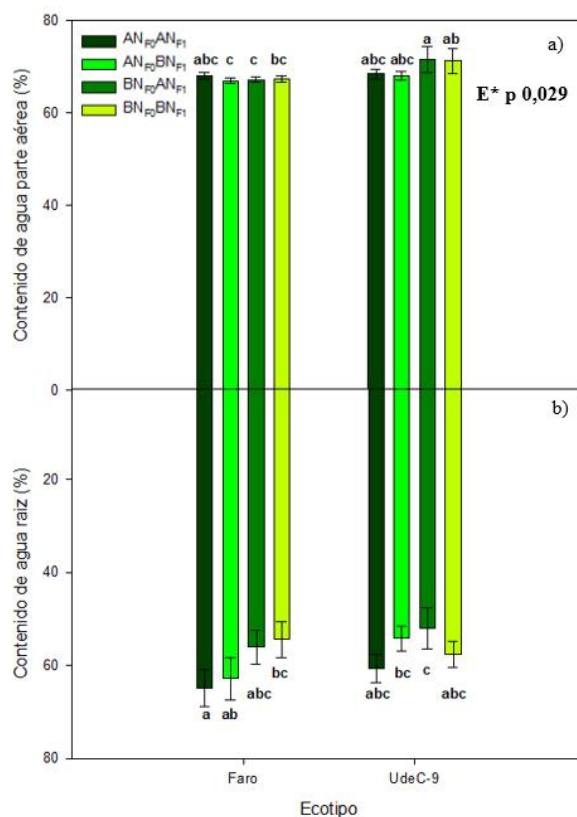


Figura 2. Estado hídrico de las plantas por tratamiento. A) Porcentaje de agua contenido en la parte aérea (Tallo, hoja y panoja). B) Porcentaje de agua contenido en la parte radicular. Las barras muestran los valores de media \pm E.E (n = 5). Letras en común indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos mediante un ANOVA de tres vías, cuyos factores fueron el aporte de N en F0 y el aporte de N en las plántulas. Fisher LSD se utilizó como prueba post hoc (p < 0,05).

BIBLIOGRAFÍA

Bascuñán-Godoy, L., Alcaíno, C., Carvajal, D. E., Sanhueza, C., Montecinos, S., and Maldonado, A. 2015. Ecophysiological responses to drought followed by re-watering of two native Chilean swamp forest plants: *Myrceugenia exsucca* (DC.) O. Berg and *Luma chequen* (Molina) A. Gray. *Gayana Bot*, 72, 203–212.

Bascuñán-Godoy, L., Sanhueza, C., Hernández, C. E., Cifuentes, L., Pinto, K., Álvarez, R., & González-Teuber, M. (2018a). Nitrogen Supply Affects Photosynthesis and Photoprotective Attributes During Drought-Induced Senescence in Quinoa. *Front. Plant Sci.*, 9(July), 1–14.

Bascuñán-Godoy, L., Sanhueza, C., Pinto, K., Cifuentes, L., Reguera, M., Briones, V., Zurita-Silva, A., Álvarez, R., Morales, A. & Silva, H. (2018b). Nitrogen physiology of contrasting genotypes of *Chenopodium quinoa* Willd. (Amaranthaceae). *Sci. Rep.*, 1–12.

Buscardo E, Geml J, Schmidt SK, et al. Of mammals and bacteria in a rainforest: Temporal dynamics of soil bacteria in response to simulated N pulse from mammalian urine. *Funct Ecol*. 2018; 32: 773–784.

Castro, C., Rojas, J., Ortíz, J., Sanhueza-Lepe, R., Vergara, A., Poblete, F. et al. (2024). Nitrogen Stress Memory in Quinoa: Maternal Effects on Seed Metabolism and Offspring Growth and Physiology. *Physiologia Plantarum*, 176(6), e14614.

Condon, A. G., Richards, R. A., Rebetzke, G. J., & Farquhar, G. D. (2004). Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, 55(407), 2447-2460.

Coskun, D., Britto, D. T., Shi, W., & Kronzucker, H. J. (2017). How plant root exudates shape the nitrogen cycle. *Trends in Plant Science*, 22(8), 661–673.

Crisp, P. A., Ganguly, D., Eichten, S. R., Borevitz, J. O., Pogson, B. J. 2016. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Sci. Adv.* 2, e1501340

Ding L., Lu Z., Gao L., Guo S., Shen Q. 2018. Is Nitrogen a Key Determinant of Water Transport and Photosynthesis in Higher Plants Upon Drought Stress?. *Frontiers in Plant Science* vol 9

Evans, John. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia*. 78. 9-19.

Flexas, J., Díaz-Espejo, A., Conesa, M. A., Coopman, R. E., Douthe, C., Gago, J., Gallé, A., Galmés, J., Medrano, H., Ribas-Carbo, M., Tomás, M., & Niinemets, Ü. (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.

Flexas, J., Carriqui M., 2020. Photosynthesis and photosynthetic efficiencies along the terrestrial plant's phylogeny: lessons for improving crop photosynthesis. *Plant J.*, 101 (4), pp. 964-978

Fuentes, F., Bazile, D., Bhargava, A., & Martínez, E. A. (2009). Morphological and agronomic diversity in Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(6), 453–463.

Fuentes, I., Fuster, R., Avilés, D., & Vervoort, W. (2021). Water scarcity in central Chile: the effect of climate and land cover changes on hydrologic resources. *Hydrological Sciences Journal*, 66(6), 1028–1044.

Gao, Y., Li, X., Han, M., Yang, L., & Wang, Y. (2020). Physiological insights into the interplay between nitrogen and water use efficiency in wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(2), 589-601.

Gastal, F., & Lemaire, G. (2002). N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 789-799.

González JA, M Bruno, M Valoy y FE Prado. 2011. Genotypic variation of gas exchange parameters and leaf stable carbon and nitrogen isotopes in ten quinoa cultivars grown under drought. *Journal of Agronomy and Crop Science* 197: 81-93

Gutiérrez del Pozo, D. 2010. Aclimatación de la fotosíntesis en el dosel vegetal del trigo al aumento del CO₂ atmosférico. Función del nitrógeno y las citoquininas en cultivos en cámaras de campo con clima mediterráneo. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca. GREDOS

Havé, M., Marmagne, A., Chardon, F., Masclaux-Daubresse, C. 2017. Nitrogen remobilization during leaf senescence: lessons from Arabidopsis to crops, *Journal of Experimental Botany*, Volume 68, Issue 10, Pages 2513–2529

Herman, J. J., & Sultan, S. E. (2011). Adaptive transgenerational plasticity in plants: Case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Frontiers in Plant Science*, 2, 102

Herman, J. J., & Sultan, S. E. (2016). DNA methylation mediates genetic variation for adaptive transgenerational plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1838), 20160988.

Hoover, D. L., Abendroth, L. J., Browning, D., Saha, A., Snyder, K., Wagle, P., Witthaus, L., Baffaut, C., Biederman, J., Bosch D.D., Bracho, R., Busch, D., Clark, P., Ellsworth, P., Fay, P. A., Flerchinger, G., Kearney, S., Levers, L., Saliendra, N., Schmer, M., Schomberg, H., Scott, R. L. 2023. Indicators of water use efficiency across diverse agroecosystems and spatiotemporal scales, *Science of The Total Environment*, Volume 864.

Jacobsen SE y A Mujica. 2001. Quinoa: cultivo con resistencia a la sequía y otros factores adversos. *La Gestión de la Biodiversidad: Áreas Protegidas y Áreas Vulnerables*. IV Simposio Internacional de Desarrollo Sustentable.

Jacobsen S-E, A Mujica y CR Jensen. 2003. The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. *Food Reviews International* 19: 99-109.

Jacobsen S-E, F Liu y CR Jensen. 2009. Does rootsourced ABA play a role for regulation of stomata under drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Scientia Horticulturae* 122:2, 281–287.

Jensen CR, S-E Jacobsen, MN Andersen, N Núñez, SD Andersen, L Rasmussen & VO Mogensen. 2000. Leaf gas exchange and water relation characteristics of field quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during soil drying. *European Journal of Agronomy* 13: 11-25.

Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O., and Edwards, G. E. (2004). New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynth Res*, 79, 209–218.

Kojima, S., Bohner, A., Gassert, B., Yuan, L., & von Wirén, N. (2007). AtDUR3 represents the major transporter for high-affinity urea transport across the plasma membrane of nitrogen-deficient *Arabidopsis* roots. *The Plant Journal*, 52 (1), 30-42.

La quinoa: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. 2011. Fao.org.

Lämke, J., & Bäurle, I. 2017. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome Biology*, 18(1), 1–11.

Lawson, T., & Blatt, M. R. (2014). Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. *Plant Physiology*, 164(4), 1556-1570.

Lemaître T, Gaufichon L, Boutet-Mercey S, Christ A, Masclaux-Daubresse C. 2008. Enzymatic and metabolic diagnostic of nitrogen deficiency in *Arabidopsis thaliana* Wassileskija accession. *Plant Cell Physiol.* Jul;49(7):1056-65.

Liu, H. P., Able, A. J., and Able, J. A. 2021. Nitrogen Starvation-Responsive MicroRNAs Are Affected by Transgenerational Stress in Durum Wheat Seedlings. *Plant (Basel)*, 10(5), 826.

Liu, L. H., Ludewig, U., Gassert, B., Frommer, W. B., & von Wirén, N. (2003). Urea transport by nitrogen-regulated tonoplast intrinsic proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 133(3), 1220-1228.

Long, S.P. 1991). Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentrations: Has its importance been underestimated?. *Plant, Cell & Environment*, 14: 729-739.

Longas MM, Chantre GR. & Sabbatini MR. 2016. Soil nitrogen fertilisation as a maternal effect on *Buglossoides arvensis* seed germinability. *Weed Research* 56, 462–469.

Longas M., Sabbatini MR., Batlla D, Chantre GR. 2021. Effect of contrasting maternal nitrogen environments on *Buglossoides arvensis* seed germination response to gibberellic and abscisic acids. *Weed Res*; 61: 221–230.

Luo, J., Li H., Liu, T., Polle A., Peng C., Luo, Z. 2013. Nitrogen metabolism of two contrasting poplar species during acclimation to limiting nitrogen availability, *Journal of Experimental Botany*, Volume 64, Issue 14, Pages 4207–4224

Luna-Flores, W., Estrada-Medina, H., Jiménez-Osornio, J. J. M., & Pinzón-López, L. L. (2012). Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana*, 30(4), 343-353

Martin, T., Oswald, O., and Graham, I. A. 2002. Arabidopsis seedling growth, storage lipid mobilization, and photosynthetic gene expression are regulated by carbon: nitrogen availability. *Plant Physiol.* 128, 472–481.

Martin, R. E., Asner, G. P., and Sack, L. 2007. Genetic variation in leaf pigment, optical and photosynthetic function among diverse phenotypes of *Metrosideros polymorpha* grown in a common garden. *Oecologia* 151, 387–400.

Maxwell, K., and Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J Exp Bot*, 51, 659–668.

Merigout, P., Lelandais, M., Bitton, F., Renou, J. P., Briand, X., Meyer, C., & Daniel-Vedele, F. (2008). Physiological and transcriptomic aspects of urea uptake and assimilation in *Arabidopsis* plants. *Plant Physiology*, 147(3), 1225-1238.

Meza, F.J., Silva, D., Vigil, H. 2008. Climate change impacts on irrigated maize in Mediterranean climates: Evaluation of double cropping as an emerging adaptation alternative, *Agricultural Systems*, Volume 98, Issue 1, Pages 21-30

Mobley, H. L., & Hausinger, R. P. (1989). Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological Reviews*, 53(1), 85-108.

Mu, X., Chen, Q., Chen, F., Yuan, L., and Mi, G. 2016. Within-leaf nitrogen allocation in adaptation to low nitrogen supply in maize during grain-filling stage. *Front. Plant Sci.* 7:699.

Mu, X., & Chen, Y. 2021. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 76–82.

Mujica, A, Jacobsen, S.; Aguilar, P.; Ortiz, R.; Ames, T. 1999. *La Quinoa*. Universidad nacional del altiplano. Puno, Perú. 44 p

Nacry, P., Bouguyon, E. & Gojon, A. 2013. Nitrogen acquisition by roots: physiological and developmental mechanisms ensuring plant adaptation to a fluctuating resource. *Plant Soil* 370, 1–29

Ookawa, T., Naruoka, Y., Sayama, A. and Hirasawa, T. 2004, Cytokinin Effects on Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase and Nitrogen Partitioning in Rice during Ripening. *Crop Sci.*, 44: 2107-2115.

Pereira-Netto, A. B. 2002. Crescimento e desenvolvimento. In: WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. (Eds.). Fisiologia vegetal - produção e pós-colheita. Curitiba: Champagnat. p. 17-42.

Quemada, M., Gabriel, J. L. 2016. Approaches for increasing nitrogen and water use efficiency simultaneously, *Global Food Security*, Volume 9, Pages 29-35

Qin, W. 2015. Exploring options for improving water and nitrogen use efficiency in crop production systems (Doctoral dissertation, Wageningen University and Research).

Razzaghi F, SH Ahmadi, VI Adolf, CR Jensen, S-E Jacobsen y MN Andersen. 2011. Water relations and transpiration of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under salinity and soil drying. *Journal of Agronomy and Crop Science* 197: 348-360.

Reich, P.B., Ellsworth, D.S., and Walters, M.B. 1998. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis–nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology*, 12: 948-958.

Roach, D. A., & Wulff, R. D. (1987). Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1), 209–235.

Sadras, V. O., & Milroy, S. P. (1996). Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: A review. *Field Crops Research*, 47(2-3), 253–266

Salazar, C., Pino, M. T., & Villagra, P. 2016. La emisión de fluorescencia de la clorofila a: una herramienta para la detección del efecto del estrés hídrico en el aparato fotosintético de la papa.

Shi J., Yasuor, H., Yermiyahu, U., Zuo, Q., Ben-Gal, A. 2014. Dynamic responses of wheat to drought and nitrogen stresses during re-watering cycles, *Agricultural Water Management*, Volume 146, Pages 163-172, ISSN 0378-3774

Stitt, M., and Krapp, A. 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant Cell Environ.* 22, 583–621.

Sultan, S. E., Barton, K., & Wilczek, A. M. (2009). Contrasting patterns of transgenerational plasticity in ecologically distinct congeners. *Ecology*, 90(7), 1831-1839.

Swoczyna, T., Kalaji H. M., Bussotti F., Mojski J., Pollastrini M. 2022. Environmental stress - what can we learn from chlorophyll a fluorescence analysis in woody plants? A review. *Frontiers in Plant Science*. 13

Taylor, J. R. N., & Parker, M. L. 2002. Quinoa. En *Pseudocereals and Less Common Cereals* (pp. 93–122). Springer Berlin Heidelberg

Uller, T., Nakagawa, S., & English, S. (2013). Weak evidence for anticipatory parental effects in plants and animals. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(10), 2161-2170.

Van Dooren, T. J. M., Bortolini Silveira, A., Gilbault, E., Jiménez-Gómez, J. M., Martin, A., Bach, L., Tisné, S., Quadrana, L., Loudet, O., Colot, V. 2020. Mild drought in the vegetative stage induces phenotypic, gene, expression, and DNA methylation plasticity in *Arabidopsis* but no transgenerational effects. *Journal of Experimental Botany*, 71(12), 3588–3602.

Van Spanning, R.J.M., Delgado, M.J., Richardson, D.J. 2005. The Nitrogen Cycle: Denitrification and its Relationship to N₂ Fixation. In: Werner, D., Newton, W.E. (eds) *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment. Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress*, vol 4. Springer, Dordrecht.

Watson, C. J., Miller, H., Poland, P., Kilpatrick, D. J., Allen, M. D. B., Garrett, M. K., & Christianson, C. B. 1994. Soil properties and the ability of the urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (nBTPT) to reduce ammonia volatilization from surface-applied urea. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(9), 1165-1171.

Witte, C. P. (2011). Urea metabolism in plants. *Plant Science*, 180(3), 431-438.

Wong, S. C., Cowan, I. R., & Farquhar, G. D. (1979). Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature*, 282(5737), 424-426.

Zhu JK. Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*. 2016 Oct 6;167(2):313-324.

