UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS

EFECTO DE LA VARIACIÓN DE LA RAZÓN ROJO:ROJO LEJANO EN LA INDUCCIÓN DE RESPUESTAS ANTICIPATORIAS AL ESTRÉS POR ALTAS TEMPERATURAS EN *AMARANTHUS CRUENTUS* L.

SEMINARIO DE TÍTULO PRESENTADO A LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS, DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIÓLOGO

FELIPE ANDRÉS ASALGADO HERNÁNDEZ

PROFESOR GUÍA ENRIQUE IGNACIO OSTRIA GALLARDO
CO-GUÍA CATALINA JAVIERA CASTRO OÑATE

Marzo 2026
Concepción, Chile

© 2026 Felipe Asalgado

felipe.a.asalgadohernandez@gmail.com

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

Este seminario de título ha sido desarrollado en el laboratorio de Fisiología vegetal, del Departamento de Botánica, en la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, en la Universidad de Concepción,

PROFESOR GUÍA

Dr. Enrique Ignacio Ostria Gallardo _____

CO-GUÍA

Dra. Catalina Javiera Castro Oñate _____

PROFESORAS EVALUADORAS

Dra. Luisa Leticia Bascuñán Godoy _____

Dra. Grisel Beatriz Cavieres Parada _____

PROFESOR COORDINADOR

Dr. Víctor Javier Hernández Santander _____

DEDICATORIA

El demiurgo de esta investigación ha sido la curiosidad insistente.

Se la dedico a Constanza, mi novia, que me escuchó pacientemente.

A mis amigas y amigos, Catalina, Francia, Max y Sebastián por su apoyo constante.

A mi familia, Diego, Susan, Demian, Lily, Mauricio y mis abuelitos José y Teodora, a todos por confiar e impulsarme hacia un camino que antes no nos era cercano.

Y a la naturaleza, que me permitió estudiarla.

Debo decir que fui muy feliz creando esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Laboratorio de Fisiología Vegetal por brindarme el espacio y la infraestructura necesarios para el desarrollo de esta investigación. A mi profesor guía, Dr. Enrique, por su confianza, orientación y constante apoyo durante todo el proceso. A mi co-guía, Dra. Catalina, por su dedicación, rigurosidad y disposición para enseñar en todo momento. Y a Estrella, por su dedicado y diligente cuidado de las plantas a lo largo de este experimento.

Agradezco también al Proyecto FONDECYT Regular N.º 1250247 por el financiamiento que hizo posible la realización de este trabajo. Asimismo, extiendo mi gratitud a todos los integrantes del laboratorio por sus comentarios, sugerencias y apoyo, los cuales contribuyeron significativamente a la concreción de esta tesis.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS viii
ÍNDICE DE FIGURAS viii
ABREVIATURAS ix
RESUMEN x
INTRODUCCIÓN 1
Estrés térmico y desafíos fisiológicos en plantas 1
Señales ambientales informativas y modulación anticipatoria 2
Señales lumínicas como información ambiental. 5
Integración R:FR y temperatura 6
Modulación fisiológica por señales lumínicas 8
Marco biológico del organismo modelo 10
Pregunta de investigación. 12
Hipótesis. 12
Objetivo general 12
Objetivos específicos y actividades. 12
METODOLOGÍA 13
Material vegetal y condiciones de cultivo 13
Diseño Experimental 13
Caracterización lumínica y determinación de R:FR 16
Caracterización fotosintética 17
Preparación y conservación del material vegetal 18
Análisis bioquímicos 18
Cuantificación de contenido de proteínas solubles totales 18
Cuantificación de azúcares solubles totales. 19
Cuantificación de Almidón 20
Cuantificación de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores 21
Actividad enzimática antioxidante 21
Capacidad antioxidante total (DPPH) 22
Rendimiento reproductivo y adecuación biológica 23
Análisis de asignación reproductiva 25
Análisis estadístico univariados 25
Análisis multivariado 26

RESULTADOS **27**
Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido de proteínas totales .. 27
Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores 28
Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido Antocianinas. 30
Efecto de la temperatura y calidad de luz en la fotosíntesis. 32
Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido de azúcares solubles totales y almidón. 34
Efecto de la temperatura y calidad de luz en componentes del estado antioxidante enzimático y capacidad antioxidante total. 36
Atributos reproductivos 38
Modelo de asignación 42
Parámetros asociados a la germinación y viabilidad de semillas. 45
DISCUSIÓN **51**
Respuesta reproductiva 55
Alcance de la interpretación y límites del diseño experimental 56
CONCLUSIÓN **59**
GLOSARIO **60**
BIBLIOGRAFÍA **61**
ANEXO **79**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.Fases, tiempo de evaluación y estado fenológico 14
Tabla 2. Radiación Fotosintéticamente Activa. 17
Tabla 3. Asignación reproductiva en panojas 41
Tabla 4. Dinámica de germinación y desempeño 46
Tabla 5. Interacción de evaluación de homogeneidad de pendientes. 81
Tabla 6. ANOVA tipo 2 del modelo ANCOVA 81
Tabla 7. Modelos comparados 82
Tabla 8. Comparaciones de modelos 82
Tabla 9. ANCOVA valores robustos 83
Tabla 10. Presión de déficit de vapor 83

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Flujo de la información en la aclimatación preventiva 6
Fig. 2. Tratamientos lumínicos 15
Fig. 3. Criterio de clasificación tipo de panoja en *Amaranthus cruentus*. 24
Fig. 4. Contenido de proteínas solubles totales 27
Fig. 5. Contenido de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores 29
Fig. 6. Contenido de pigmentos rojos acidificados y derivados. 31
Fig. 7. Respuesta del intercambio gaseoso foliar 33
Fig. 8. Contenido de azúcares solubles y almidón 35
Fig. 9. Modulación del sistema antioxidante 37
Fig. 10. Longitud y diámetro del raquis de panoja apical y axilar 39
Fig. 11. Relación peso total panoja y peso de semillas 43
Fig. 12. Interacción entre tipo de panoja y tamaño sobre la producción de semillas. 44
Fig. 13. Curva acumulada de germinación de semillas 47
Fig. 14. Análisis de componentes principales de variables cuantificadas 49
Fig. 15. Curva de calibración proteína soluble total 80
Fig. 16. Curva de calibración almidón. 80
Fig. 17. Curva de calibración azúcar soluble total 81
Fig. 18. Gráfico de flujo de fotones espectrales 84

ABREVIATURAS

ABA ácido abscísico

ANOVA análisis de varianza

BBCH escala fenológica BBCH (biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt y Chemische industrie)

DPPH 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

FDR tasa de descubrimiento falso

PAR radiación fotosintéticamente activa

PCA análisis de componentes principales

PERMANOVA análisis de varianza multivariado permutacional

PERMDISP análisis de dispersión multivariada

PhyB fitocromo B

Pfr forma activa del fitocromo

Pr forma inactiva del fitocromo

PSII fotosistema II

R:FR relación de luz roja/roja lejana

ROS especies reactivas de oxígeno

TDR reflectometría de dominio de tiempo

RESUMEN

El aumento en la frecuencia e intensidad de las olas de calor representa un desafío fisiológico crítico para las plantas. Bajo la premisa que las plantas pueden integrar señales ambientales, se plantea que hay señales que pueden inducir respuestas anticipatorias a una condición de estrés y aumentar su desempeño en respuestas y capacidad de reajuste.

En esta tesis se evaluó si señales lumínicas con distinta proporción entre rojo y rojo lejano (R:FR) inducen estados fisiológicos preventivos en *Amaranthus cruentus* capaces de modular la respuesta frente a una ola de calor. Para ello, las plantas fueron expuestas durante dos días a tres condiciones lumínicas (Alto R:FR, Bajo R:FR y Control) y luego sometidas a una ola de calor simulada de 35/25 °C día / noche. Se cuantificaron variables fisiológicas y reproductivas. Los datos se analizaron mediante modelos univariados y multivariados.

En general, los resultados mostraron que la señal lumínica modificó la respuesta al estrés por alta temperatura. El tratamiento Alto R:FR mantuvo mejor desempeño relativo durante la ola de calor, mientras que Bajo R:FR presentó una disminución más marcada en transpiración, conductancia estomática y fotosíntesis neta, además de un menor desempeño reproductivo. Además, los azúcares solubles y la capacidad antioxidante mostraron dependencia de la señal lumínica durante la ola de calor, mientras que otras variables como proteínas solubles totales y pigmentos respondieron directamente a la temperatura.

Estos resultados indican que la calidad espectral de la luz puede modificar el estado fisiológico previo al estrés y, con ello, modular la respuesta de *A. cruentus* frente a una ola de calor. Esta modulación varió entre respuestas fisiológicas y rasgos reproductivos dependiendo de la razón R:FR y su interacción con la temperatura.

ABSTRACT

The increased frequency and intensity of heat waves pose a critical physiological challenge for plants. Based on the premise that plants can integrate environmental signals, it is proposed that certain signals can induce anticipatory responses to stress conditions and enhance their performance in responding to and readjusting to stress.

This thesis evaluated whether light signals with varying red-to-far-red (R:FR) ratios induce preventative physiological states in *Amaranthus cruentus* that modulate the response to a heat wave. To this end, plants were exposed for two days to three light conditions (High R:FR, Low R:FR, and Control) and then subjected to a simulated heat wave of 35/25 °C day/night. Physiological and reproductive variables were quantified. Data was analyzed using univariate and multivariate models.

Overall, the results showed that the light signal modified the response to high-temperature stress. The high R:FR treatment maintained better relative performance during the heat wave, while the low R:FR treatment showed a more marked decrease in transpiration, stomatal conductance, and net photosynthesis, as well as reduced reproductive performance. Furthermore, soluble sugars and antioxidant capacity showed dependence on the light signal, while other variables responded directly to temperature.

These results indicate that the spectral quality of light can modify the physiological state prior to stress and, consequently, modulate the response of *A. cruentus* to a heat wave. However, this modulation varied between physiological responses and reproductive traits depending on the R:FR ratio and its interaction with temperature.

INTRODUCCIÓN

Estrés térmico y desafíos fisiológicos en plantas

En el contexto actual del cambio climático global, se observa un aumento en la frecuencia e intensidad de eventos térmicos breves y anómalos respecto al clima local, como las olas de calor (Perkins-Kirkpatrick & Lewis 2020). Estos eventos pueden superar el rango fisiológico óptimo de las plantas, y, dependiendo de su duración e intensidad, provocar estrés fisiológico, disfunción metabólica o incluso la muerte (Stillman, 2019). En las plantas, este desafío resulta particularmente relevante debido a su naturaleza sésil, por lo que su supervivencia a estos eventos depende de su capacidad de ajustar su funcionamiento fisiológico y metabólico frente a cambios en el ambiente (Oleti *et al.* 2024).

Durante décadas, las respuestas de las plantas frente al estrés se han interpretado y estudiado principalmente como respuestas reactivas, es decir, como un conjunto de mecanismos fisiológicos y moleculares que se activan una vez que el estrés ya ha producido un efecto sobre el funcionamiento de la planta. Sin embargo, comprender cómo las plantas perciben e integran estas señales ambientales que preceden a condiciones adversas se ha convertido en una línea de investigación de interés, ya que proporciona bases para el desarrollo de cultivos más resilientes frente a escenarios climáticos variables (Verslues *et al.* 2023).

Las altas temperaturas afectan múltiples procesos fundamentales en las plantas, comprometiendo su desempeño fisiológico y reproductivo (Zinn et al. 2010; Seth & Sebastián 2024; Sato et al. 2024; Chaudhary et al. 2025). Uno de los efectos más tempranos ocurre en el aparato fotosintético, donde el calor puede desestabilizar el fotosistema II (PSII), reduciendo su eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) y afectando proteínas clave involucradas en la estabilidad y funcionamiento del PSII, como la proteína D1 (Paethaisong *et al.* 2025). Asimismo, enzimas del ciclo de Calvin, incluyendo RuBisCO, pueden disminuir su actividad catalítica a temperaturas elevadas, mientras que

el cierre estomático reduce el ingreso de CO_2, limitando la fijación y el balance de carbono (C) (Scafaro *et al.* 2023).

En paralelo, la respiración celular suele incrementar en respuesta al aumento de la temperatura debido a una mayor demanda energética asociada a procesos de mantenimiento y reparación celular. Sin embargo, si este incremento no es compensado por una suficiente asimilación de C mediante la fotosíntesis o por movilización de reservas metabólicas, puede producir un déficit energético que compromete el equilibrio metabólico y la integridad celular (Scafaro *et al.* 2021).

Otro efecto importante del estrés por altas temperaturas es la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS). El exceso de electrones puede transferirse al oxígeno molecular, generando radicales como superóxido ($O_2 \cdot^-$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), lo que incrementa el estrés oxidativo y el daño a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Goraya *et al.* 2017; Meng *et al.* 2024). Estos procesos pueden provocar desbalances en el transporte de electrones en cloroplastos y mitocondrias, afectando particularmente la capacidad de fijación de carbono, reduciendo significativamente el crecimiento, la reproducción y el fitness de las plantas (Ding & Yang 2022).

Si las plantas son capaces de percibir señales ambientales que preceden consistentemente eventos de estrés, éstas podrían activar mecanismos fisiológicos protectores antes de que ocurra daño. En ambientes naturales, las condiciones ambientales cambian de manera predecible antes de episodios de estrés, lo que les permitiría utilizar estas señales como indicadores tempranos para ajustar su fisiología (Mertens *et al.* 2021).

Señales ambientales informativas y modulación anticipatoria

Diversos estudios bajo el enfoque de la fisiología vegetal han sugerido que las plantas pueden ajustar su estado fisiológico en respuesta a señales ambientales periódicas (por ejemplo, fotoperíodo) antes que otras condiciones menos favorables se manifiesten (por ejemplo, descenso de la temperatura). Durante el siglo XX, esta idea comenzó a delinearse a partir de trabajos sobre el fotoperiodo y ritmos circadianos (Bünning 1936, 1960; Pittendrigh 1960; Irving & Lanphear 1967). Se propuso que los ciclos ambientales

periódicos podían modular procesos internos del organismo a través de mecanismos endógenos de organización temporal. Esta idea convergió en aclimatación preventiva, referido los ajustes fenológicos frente a cambios estacionales (Vázquez 1992). No obstante, estas interpretaciones fueron en gran medida descriptivas y no distinguían con precisión la naturaleza de la señal ni su significado funcional o potencial adaptativo.

Aphalo & Ballaré (1995) propusieron que las plantas poseen sistemas de adquisición de información que les permiten detectar cambios microambientales asociados a vecinos y sombreado, es decir, utilizar señales ambientales para modular su fisiología, morfología, fenología y plasticidad fenotípica. Posteriormente, este fenómeno fue formalizado en términos evolutivos bajo el concepto de anticipación adaptativa, definido como el uso de señales tempranas con valor predictivo para ajustar el fenotipo antes de una condición futura (Mitchell et al. 2009).

Después de décadas, y tras una acumulación importante de estudios en ecología y fisiología vegetal (Karban 2008, 2015; Heil & Karban 2010; Casal 2013; Novoplansky 2015), Aphalo & Sadras (2022, 2025) reformularon este planteamiento con fundamentos mecanísticos de biología evolutiva en plantas mediante una reinterpretación de la aclimatación preventiva. A partir de correlaciones históricas entre una señal ambiental y la ocurrencia posterior de estrés (Fig.1), su valor informativo puede quedar incorporado evolutivamente en el genoma. Cuando la planta percibe esa señal en el presente, puede inferir una condición futura potencialmente estresante y ajustar su fisiología de manera anticipada. Este proceso corresponde a la aclimatación preventiva, definida como un proceso de ajuste fisiológico anticipado inducido por señales ambientales informativas, previo a la manifestación de una condición de estrés (por ejemplo, sequía estival o bajas temperaturas en invierno).

Diferentes niveles, duraciones o intensidades de una señal ambiental pueden activar mecanismos fisiológicos distintos en plantas, incluyendo procesos de aclimatación, *priming* y memoria del estrés (Verslues *et al.* 2023). Sin embargo, cuando una señal ambiental no es dañina y precede de manera consistente a la ocurrencia del estrés, pueden adquirir valor informativo y desencadenar ajustes fisiológicos. La distinción entre estos

fenómenos depende principalmente de la naturaleza de la señal que inicia la respuesta. Aunque se asemeja a la memoria en que una experiencia previa modifica la respuesta futura, se diferencia de ella ya que la respuesta se activa por una señal previa no dañina con valor predictivo, y no por la persistencia de una huella del estrés reciente (Mitchell *et al.* 2009; Aphalo & Sadras 2022). En la aclimatación, el *priming* y la aclimatación cruzada, la respuesta suele originarse a partir del propio estrés o de sus efectos fisiológicos inmediatos, aun cuando aquello modifique posteriormente la respuesta frente al mismo estresor o a otro distinto (Homayounfar *et al.* 2024; Suellen *et al.* 2024; Sugita 2024; Shoaib *et al.* 2024).

En contraste, en la anticipación adaptativa el ajuste no es gatillado por el estresor objetivo ni por sus efectos inmediatos, sino por señales ambientales que anteceden de manera consistente al evento adverso posterior, y que pueden adquirir valor informativo sobre el entorno futuro. En la mayoría de los casos, estas señales tienen un carácter inocuo para el desempeño de la planta, en otros, su carácter informativo puede coexistir con efectos fisiológicos leves, dependiendo de su intensidad y del contexto ambiental (Mitchell *et al.* 2009; Aphalo & Sadras 2022).

Desde una perspectiva evolutiva, este tipo de respuesta puede ser favorable cuando los beneficios de activar la respuesta de manera anticipada superan sus costos potenciales para la planta (Mitchell *et al.* 2009; Aphalo & Sadras 2022). A nivel de mecanismo, estos ajustes pueden involucrar procesos de memoria fisiológica y regulación epigenética descritos en respuestas al estrés en plantas, aunque no implica que toda memoria del estrés constituya necesariamente un caso de anticipación adaptativa (Lämke & Bäurle 2017; Aphalo & Sadras 2022; Ramakrishnan *et al.* 2022). En consecuencia, no toda respuesta previa al estrés debe interpretarse como anticipatoria, el criterio central sigue siendo que la señal inicial posea valor informativo y no corresponda al estresor mismo.

En este contexto, resulta pertinente evaluar qué señales ambientales pueden adquirir valor informativo en plantas y modular respuestas fisiológicas previas a la manifestación del estrés.

Señales lumínicas como información ambiental.

Entre las señales ambientales que pueden adquirir valor informativo en plantas, la luz destaca por su variación predecible en escalas diarias y estacionales, así como su relación con cambios en la estructura de la vegetación y el entorno. La luz actúa como una fuente de información capaz de modular procesos de crecimiento, desarrollo y ajuste fisiológico (Aphalo & Ballaré 1995; Franklin 2008; Casal 2013).

Uno de los ejemplos más estudiados de señal ambiental con valor informativo es el fotoperiodo, cuya variación permite a las plantas sincronizar procesos biológicos con cambios estacionales futuros (Wilczek *et al.* 2009). Sin embargo, la luz varía tanto en su duración, intensidad y en su calidad espectral. En particular, la relación entre luz roja y roja lejana (R:FR, del inglés *Red:Far-Red*) puede aportar información sobre el microambiente, la densidad del dosel y condiciones generales del entorno, como la posición solar, la latitud y la estación del año, ya que varía de forma sistemática según estos factores (Casal 2013; Chiang *et al.* 2019; Bao *et al.* 2024).

La señal R:FR ha sido estudiada en el contexto de la detección de sombra y competencia (en estudio de ecología o ecofisiología). No obstante, su variación también puede reflejar cambios ambientales diferentes a la competencia inmediata. En condiciones abiertas (por ejemplo, planicie) la proporción R:FR suele ser más alta, mientras que disminuye en situaciones de sombreado o en determinados momentos del día debido a la absorción diferencial del espectro por la vegetación circundante (Franklin 2008; Casal 2013). Por ello, la relación de R:FR constituye una señal periódica ecológicamente coherente, ya que informa sobre el ambiente lumínico inmediato y, además, sobre condiciones del entorno relevantes para el desempeño posterior de la planta.

Durante los últimos años, diversos estudios han mostrado que modificaciones en la relación R:FR pueden inducir respuestas morfo-fisiológicas relacionadas a la termomorfogénesis y termotolerancia, aun en ausencia de cambios térmicos (Casal 2013; Shibuya *et al.* 2019). En este marco, la calidad espectral de la luz surge como una señal candidata para evaluar si un cambio lumínico en la razón R:FR puede modular de manera

anticipada procesos fisiológicos relevantes frente a un estrés posterior por altas temperaturas.

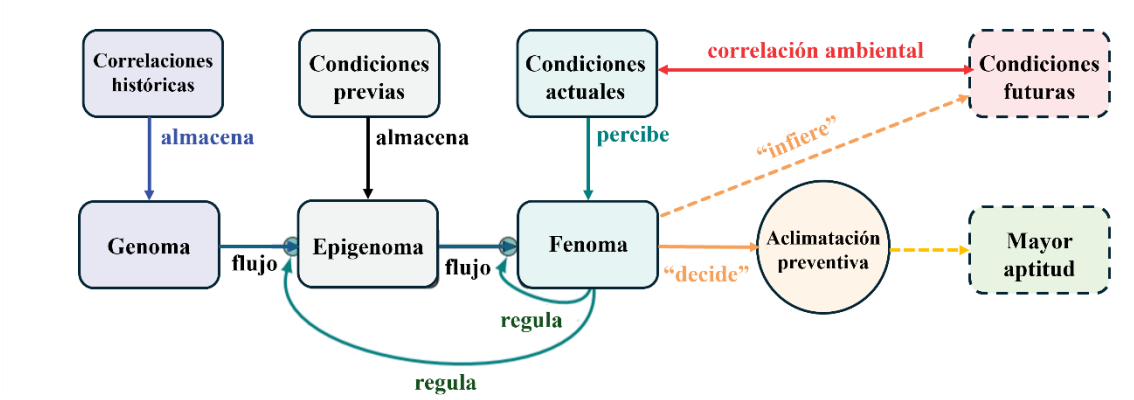

Fig. 1. Flujo de la información en la aclimatación preventiva. Traducido y adaptado de Aphalo y Sadras 2022. Las flechas representan flujos de información; azul, recuperada desde el genoma (almacenada durante la evolución); negro, adquirida durante la vida del individuo o de su progenitor; verde azulado, regulación de la expresión génica por el Fenoma o causación descendente; rojo, correlación temporalmente desfasada entre dos o más variables ambientales; naranja, resultado del procesamiento de información, que corresponde a una "decisión" del desarrollo basada en un pronóstico ambiental implícito y con implicancias para la aptitud; verde, fenotipo futuro con "aptitud mejorada", en términos probabilísticos, en comparación con la ausencia de aclimatación.

Integración R:FR y temperatura

La plausibilidad de la relación R:FR como señal anticipatoria depende de que las plantas posean sistemas capaces de percibir variaciones en la calidad espectral de la luz e integrarlas con otras dimensiones relevantes del ambiente. En este contexto, los fitocromos son fotorreceptores sensibles a la proporción R:FR que permiten traducir cambios espectrales del entorno a una respuesta fisiológica. Estos fotorreceptores están en dos formas interconvertibles, Pr y Pfr, cuya proporción refleja condiciones lumínicas del entorno como la densidad del dosel, el ángulo solar y la estructura de la vegetación circundante (Linschitz *et al.* 1966; Casal 2013).

Entre estos, el fitocromo B (PhyB) posee un rol fundamental en la integración entre señales lumínicas y térmicas. Inicialmente fue estudiado por su participación en fotomorfogénesis y evitación de sombra, pero hoy se reconoce además como un componente regulador central en procesos asociados a termomorfogénesis, crecimiento y respuesta al ambiente (Franklin & Quail 2010; Ballaré *et al.* 2012; Goyal *et al.* 2013; Sng *et al.* 2023; Sharma *et al.* 2025). Estudios recientes han establecido que PhyB actúa como sensor dual de luz y temperatura debido al fenómeno de reversión térmica de su forma activa, lo que modula directamente su función de señalización (Legris *et al.* 2016; Qiu *et al.* 2019; Klose *et al.* 2020). Esta propiedad proporciona una base mecanicista para entender cómo las plantas integran simultáneamente variaciones espectrales y térmicas del entorno.

En esa línea, trabajos recientes han permitido precisar mecanismos moleculares que explican cómo la integración entre luz y temperatura se traduce en respuestas reguladas de crecimiento y termomorfogénesis. En particular, se ha demostrado que la termopercepción mediada por PhyB depende de la participación del coactivador transcripcional HEMERA, en interacción con *PIF4* (*PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4*) dentro de un módulo regulatorio asociado a la señalización térmica (Qiu *et al.* 2019; Sharma *et al.* 2025). Además de su papel en la termomorfogénesis, esta integración también se proyecta sobre componentes de la respuesta al calor, incluyendo factores de transcripción y proteínas de choque térmico asociados a termotolerancia (Sharma et al. 2025).

Esta integración también involucra componentes regulatorios clásicos de la señalización lumínica, entre ellos la expresión de factores *PIF* y *HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5)*, que participan en la modulación de respuestas termomorfogénicas. En este contexto, una baja relación R:FR favorece la inactivación de PhyB, lo que reduce su efecto represor sobre *PIF3*, *PIF4* y *PIF7*, promoviendo respuestas asociadas a crecimiento y ajuste frente a temperaturas. En paralelo, *HY5* actúa como regulador negativo de este proceso, contribuyendo a modular la expresión de genes diana vinculados a termomorfogénesis (Sharma *et al.* 2025).

Así, las modificaciones en la relación R:FR pueden inducir cambios fisiológicos aun en ausencia de aumentos directos de temperatura, incluyendo alteración en elongación, arquitectura foliar, transpiración y acumulación de metabolitos vinculados a respuestas termomorfogénicas y de defensa (Shibuya *et al.* 2019; Jeong *et al.* 2024). Asimismo, una baja relación R:FR puede favorecer respuestas asociadas a la termotolerancia, incluyendo modificaciones de membrana y refuerzo de rutas antioxidantes (Cerrudo *et al.* 2012).

De esta manera, el valor informativo de la señal no depende únicamente de su consistencia ecológica actual, sino también de su posible relevancia adaptativa, en la medida en que correlaciones ambientales persistentes pueden favorecer la conservación o especialización de sistemas de percepción integradores, como los fitocromos (Aphalo & Sadras 2022; Vieira 2025). Estos antecedentes sostienen que la integración entre R:FR y la temperatura constituye un mecanismo fisiológicamente plausible para modular de manera anticipada respuestas frente al estrés por bajas y altas temperaturas.

Modulación fisiológica por señales lumínicas

Si la relación R:FR funciona como una señal ambiental informativa, su efecto no debería limitarse al crecimiento o a la arquitectura de la planta, sino extenderse a procesos fisiológicos relevantes para el desempeño frente a condiciones de estrés. En este sentido, distintos estudios han mostrado que las señales lumínicas pueden modular respuestas asociadas al intercambio gaseoso, el metabolismo, el estado redox y la fotoprotección, vinculados con la capacidad de reajuste de la planta frente a ambiente fluctuantes (Franklin 2008; Ballaré *et al.* 2012; Shibuya *et al.* 2019; Jeong *et al.* 2024).

Uno de los niveles más sensibles a esta modulación corresponde al intercambio gaseoso. La señalización mediada por fitocromos puede influir sobre la apertura estomática y la transpiración mediante su interacción con rutas hormonales y de señalización en células oclusivas (Allen *et al.* 2019; Yang *et al.* 2020; Li & Zhao 2024). En condiciones de Alto R:FR, asociado a ambientes abiertos y baja competencia lumínica, PhyB tiende a permanecer en su forma activa, induciendo una respuesta fisiológica distinta a lo observado en Bajo R:FR, donde predomina una señal de sombreado y una mayor

influencia de rutas asociadas a cierre estomático y tolerancia al estrés (Weraduwage *et al.* 2022). Esto sugiere que la calidad espectral de la luz puede modificar procesos como la fotosíntesis neta, la conductancia estomática y la transpiración.

La señal lumínica también puede afectar al metabolismo primario, particularmente en la distribución y acumulación de compuestos de reserva o de ajuste osmótico. En condiciones de Bajo R:FR se han descrito cambios en el metabolismo foliar, incluyendo la acumulación de azúcares solubles y alteraciones en el balance entre crecimiento, almacenamiento y uso de recursos (De Wit *et al.* 2013; Courbier *et al.* 2020; Wang *et al.* 2021a). La modulación de rutas hormonales y transcripcionales bajo distintas condiciones espectrales puede repercutir sobre el contenido de proteínas solubles y sobre la disponibilidad de almidón y carbohidratos móviles, afectando la manera en que la planta reorganiza sus recursos frente a un estrés posterior (Li & Zhao 2024).

Otro componente corresponde al estado redox y al sistema antioxidante. Dado que las señales lumínicas convergen con rutas redox y de defensa, se ha propuesto que cambios en R:FR podrían modular de manera anticipada la actividad de enzimas y la capacidad antioxidantes total de la planta (Mittler 2006; Hughes & Winkler 2024). En particular, se ha observado que ciertas condiciones de luz pueden reforzar rutas antioxidantes, reducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno y mejorar el desempeño fotosintético bajo estrés (Cerrudo *et al.* 2012; Wang *et al.* 2021b).

La señalización espectral también puede afectar compuestos vinculados al uso y partición de la energía lumínica, como clorofilas, carotenoides y antocianinas. Se ha descrito que la baja relación R:FR interfiere en cascadas regulatorias asociadas a la biosíntesis de flavonoides y antocianinas, modificando el equilibrio entre captación de luz, disipación de energía y protección frente a condiciones adversas (Cagnola *et al.* 2012; De Wit *et al.* 2013; Aiguo *et al.* 2023). En este sentido, cambios en la concentración de pigmentos fotosintéticos y no fotosintéticos pueden reflejar ajustes del aparato fotosintético y de la capacidad fotoprotectora inducido por la señal lumínica antes de que ocurra un estrés posterior (Leschevin *et al.* 2024; Van Brenk *et al.* 2024).

Si estas modulaciones fisiológicas de la planta previas a un evento de alta temperatura mejoran el desempeño, sus efectos podrían proyectarse más allá de la respuesta inmediata hacia el desempeño reproductivo y el establecimiento temprano de la descendencia. Así, la señal R:FR podría influir tanto en el estado fisiológico vegetativo basal de la planta como en procesos reproductivos relevantes para su desempeño bajo condiciones de eventos de alta temperatura (Rahman *et al.* 2025).

Marco biológico del organismo modelo

La familia Amaranthaceae incluye especies de alto valor económico como *Spinacia oleracea* (espinaca), *Beta vulgaris* (remolacha), *Chenopodium quinoa* (quinoa) y *Amaranthus cruentus* (amaranto), entre otras. Dentro de esta familia, el género Amaranthus reúne especies cultivadas por su valor nutricional, su alto contenido de proteínas y compuestos antioxidantes, así como por su capacidad de crecer en suelos marginales y en condiciones ambientales adversas (Lamothe *et al.* 2015; Mota *et al.* 2016; Janssen *et al.* 2017).

En particular, *Amaranthus cruentus* L. es una planta anual que vive durante 4 a 6 meses en primavera, es herbácea que presenta un único tallo principal, dicotiledónea, de hoja ancha, y alternado y cruzado (decusado). Tiene inflorescencia en racimos denominado panoja que se desarrolla durante su etapa reproductiva, posee panoja apical y de origen axilar, según el origen de la yema. El raquis de las inflorescencia es elíptico, aplanado. De metabolismo fotosintético tipo C_4, genoma diploide ($2n = 2x = 34$) y notable plasticidad ecológica, aunque con variabilidad genética relativamente limitada en comparación con otras especies del género *Amaranthus* spp. (Thapa & Blair 2018; Raiyemo *et al.* 2023).

Su rápido crecimiento, tolerancia al estrés térmico e hídrico y facilidad de cultivo la convierten en un modelo experimental adecuado para estudiar respuestas fisiológicas frente a condiciones ambientales variables.

En el contexto de esta investigación, *A. cruentus* resulta particularmente pertinente, ya que combina mecanismos basales de tolerancia al calor con una historia evolutiva

asociada a ambientes áridos . Estas características la convierten en un modelo plausible para evaluar si la integración de señales ambientales predictivas, como la calidad de la luz, puede modular respuestas previas frente a eventos de alta temperatura.

Finalmente, lo anterior sugiere que relación R:FR puede actuar como señal asociada al ambiente lumínico inmediato, además de ser una fuente de información capaz de modular respuestas fisiológicas frente a condiciones futuras de estrés por altas temperaturas. La existencia de mecanismos de integración entre calidad de la luz y temperatura, junto con la evidencia de que las señales lumínicas pueden afectar procesos fisiológicos basales y componentes del desempeño reproductivo, hace pertinente evaluar esta posibilidad en un sistema experimental con tolerancia basal al calor como *Amaranthus cruentus*.

Así, resulta razonable examinar si la variación en la relación R:FR puede inducir estados fisiológicos previos que modifiquen la respuesta de la planta frente a una ola de calor posterior. Asimismo, este enfoque permite explorar si dichos cambios se expresan únicamente a nivel fisiológico, o también se proyectan sobre componentes del desempeño biológico. Desde esta perspectiva, el presente estudio se sitúa en la intersección entre fisiología vegetal, integración de señales ambientales y respuestas anticipatorias al estrés.

Pregunta de investigación.

¿Pueden señales lumínicas con distinta relación R:FR inducir respuestas fisiológicas y metabólicas preventivas en *Amaranthus cruentus* frente a eventos de alta temperaturas?

Hipótesis.

La exposición previa de *Amaranthus cruentus* a condiciones lumínicas con una alta relación R:FR induce respuestas preventivas que favorecen su desempeño fisiológico y reproductivo frente a un evento de ola de calor.

Objetivo general

Determinar la presencia de señales fisiológicas preventivas inducidas por distintas relaciones R:FR frente a una ola de calor.

Objetivos específicos y actividades.

1. Evaluar los efectos de distintas relaciones R:FR sobre respuestas fisiológicas frente a una ola de calor.
2. Determinar el efecto de distintas relaciones R:FR sobre componentes del metabolismo primario y el sistema antioxidante frente a una ola de calor.
3. Evaluar el efecto de distintas relaciones R:FR sobre el rendimiento reproductivo frente a una ola de calor.

METODOLOGÍA

Material vegetal y condiciones de cultivo

Se utilizaron semillas de una población de *A. cruentus,* genotipo Diaguitas accesión ACR40. Se utilizaron 5 kg de suelo seco en macetas de 11 L de 22 cm de altura y 28 cm de diámetro, luego se humedecieron y se germinaron 5 semillas directamente. Las semillas germinadas se fueron abortando hasta obtener dos plántulas por maceta, con 30 macetas en total. El sustrato estuvo compuesto por 80 % de arena y un 20 % de turba (proporción volumétrica, v/v).

La turba comercial de *Sphagnum* utilizada (Kekkilä Professional, Finlandia) tenía pH 5,5 y conductividad eléctrica de $2{,}4\ mS \cdot cm^{-1}$, contenía fertilización suplementaria (N-P_2O_5-K_2O 14-16-18 + micronutrientes) y dolomita cálcica. Además, cada 3 semanas se utilizó el fertilizante Phostrogen™ preparado a una concentración de $1g \cdot L^{-1}$ para el aporte de nutrientes. El producto contiene 13 % de nitrógeno (N), 10 % de fósforo (P_2O_5), 22 % de potasio (K_2O), 6,9 % de azufre (S) y 0,74 % de Magnesio (Mg) además de micronutrientes según especificación del fabricante. Durante todo el experimento las macetas se regaron a capacidad de campo (FC) según el monitoreo del contenido de agua del suelo con un sensor TDR, de acuerdo con Ostria-Gallardo et al. (2023).

Diseño Experimental

Las plantas fueron sembradas y cultivadas en condiciones de invernadero hasta alcanzar el estado13 de la escala BBCH, correspondiente a la fase previa al desarrollo de la panoja (Martínez-Núñez *et al.* 2019). En ese momento se aplicaron los tratamientos de luz bajo distintas razones de R:FR, y posteriormente se sometieron a ola de calor, de acuerdo con lo que indica la Tabla 1.

Tabla 1.Fases, tiempo de evaluación y estado fenológico. División temporal del diseño experimental, la línea segmentada separa antes y después de ola de calor. El código BBCH representa el estado fenológico de *A. cruentus* de 0 a 12 es el desarrollo vegetativo, el 13 al 50 es el desarrollo reproductivo, de 90 para arriba es la senescencia.

Fase	Descripción	Día	Código BBCH
Fase 1 Crecimiento	Germinación	00 - 05	00
	Desarrollo vegetativo	06 - 53	12
Fase 2 Señal ambiental	Señal lumínica	54 - 56	12
Fase 3 Estrés	Ola de calor	57-63	13-50
Fase 4 Cosecha	Senescencia	120	95 – 99

El tratamiento lumínico se aplicó durante 2 días. Las 30 macetas fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos (n = 10 por tratamiento) y ubicadas en cubículos de 1 m^2 (Fig.2). La iluminación fue proporcionada mediante paneles LED comerciales (*Apollo Evolution* Pro4 de 150W, *Delight* y *Thunder Light* 4 de 192W, *GrowGenetics*).

La calidad espectral fue modificada mediante la interposición de filtros ópticos de celofán de colores rojo y azul entre la fuente lumínica y las plantas, generando los distintos tratamientos. El fotoperiodo y la distancia entre hoja y fuente lumínica se mantuvieron constantes entre tratamientos. Debido a la variabilidad fenotípica en altura, las macetas fueron rotadas periódicamente para homogenizar la exposición lumínica.

Finalizado el tratamiento lumínico, los filtros se retiraron y las plantas fueron sometidas a una ola de calor simulada durante 5 días, con un régimen de altas temperaturas de 35 °C/25 °C día/ noche, bajo un mismo espectro de luz (Control).

Posterior a la ola de calor, las plantas fueron trasladadas a invernadero, con condiciones estándar (25 °C y luz solar) para alcanzar su estado fenológico de maduración (BBCH 80) y senescencia (BBCH 95) momento en el cual se cosecharon y colectaron las semillas para análisis posteriores.

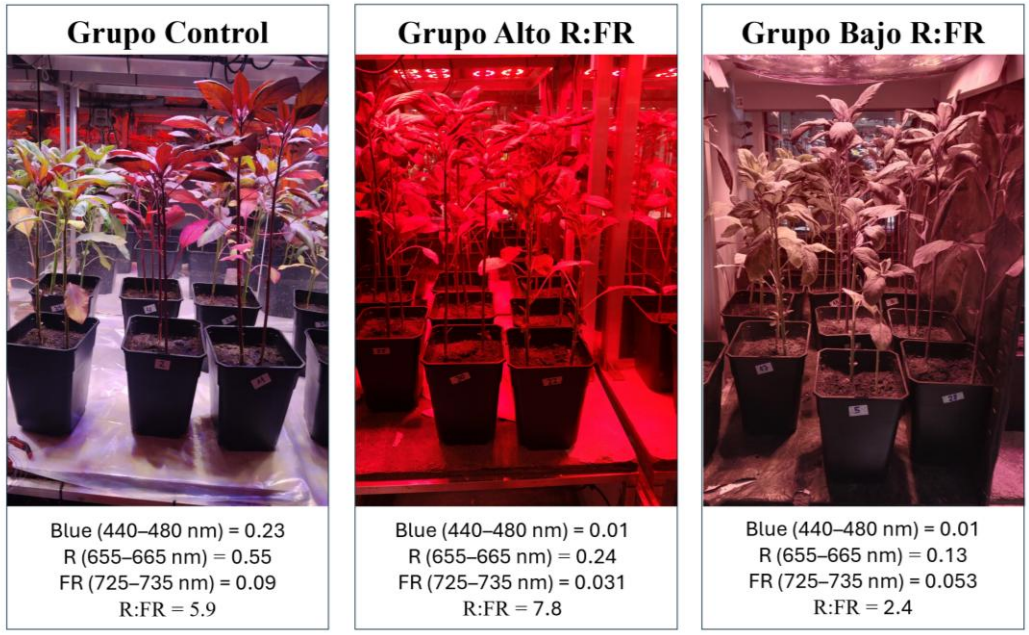

Fig. 2. Tratamientos lumínicos. Durante los dos días de tratamiento lumínico, las 30 plantas se dividieron en grupos de 10 para ser expuestas a diferentes calidades espectrales. Las temperaturas simuladas fueron de 25°C/15 °C día/noche.

Se utilizó un diseño experimental con dos factores: Calidad de luz (Control, Alto R:FR y Bajo R:FR), manteniendo constante el fotoperiodo largo (14 horas día y 10 horas noche) y la intensidad lumínica constante en todos los tratamientos, y Temperatura (Ambiente y Ola de calor). Los tratamientos Alto R:FR y Bajo R:FR estuvieron restringidos al rango 600-800nm, lo que implica la ausencia de longitudes de onda azul y verde. El grupo Control fue expuesto a luz blanca de espectro completo (aprox. 300-800 nm) de luz visible. Bajo este diseño se evaluó de manera independiente los efectos de los tratamientos de luz en procesos fisiológicos.

Caracterización lumínica y determinación de R:FR

El espectro lumínico fue caracterizado mediante un espectroradiómetro de fibra óptica EPP2000 UV-VIS (*StellarNet Inc.*, rendija de 50μm) equipado con un sensor *Apogee* con corrección coseno para mediciones hemisféricas incidentes.

Se registró la densidad espectral del flujo de fotones ($\mu mol\ m^{-2}s^{-1}nm^{-1}$) en el rango 300-850 nm, con una resolución espectral de 2 nm y con un intervalo de muestreo de 0.5 nm, efectuando previamente corrección de señal oscura (Fig.18 Anexo). Las mediciones se realizaron en el centro de cada cubículo experimental utilizando el software *SpectraWiz* en una computadora portátil.

Para calcular el R:FR se integró la calidad espectral dentro de las bandas operacionales del fitocromo definidas experimentalmente: 655–665 nm para rojo (R) y 725–735 nm para rojo lejano (FR). Estas ventanas corresponden a los máximos de fotoconversión Pr a Pfr y Pfr a Pr, respectivamente, y son el estándar en fotobiología vegetal (Zhen *et al.* 2021).

A partir del espectro medido, la irradiancia (o absorbancia proporcional a irradiancia) se sumó punto a punto dentro de cada banda y se multiplicó por el ancho espectral ($\Delta\lambda = 0{,}5$ nm) para aproximar el área bajo la curva, es decir, la energía total disponible para cada transición del fitocromo.

El R:FR se obtuvo como el cociente entre ambas áreas, lo que refleja directamente el balance cuántico que determina el estado fotoestacionario del fitocromo en la planta $R{:}FR = \frac{\int_{655}^{665} I(\lambda)\Delta\lambda}{\int_{725}^{735} I(\lambda)\Delta\lambda}$ donde $I(\lambda)$ es la irradiancia espectral a la longitud de onda λ con un $\Delta\lambda$ de 0,5nm.

Tabla 2. Radiación Fotosintéticamente Activa. Se muestra la radiación fotosintéticamente activa registrada en el centro de cada cubículo correspondiente a los tratamientos lumínicos. Se reporta media ± desviación estándar, valores de normalidad (Shapiro-Wilk) y resultado ANOVA de una vía.

Tratamiento	Intensidad media ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	Desv. estándar	Shapiro-Wilk (p)	ANOVA de una vía
Control	265,94	45,95	0,504	F=1,88, p=0,162
Alto R:FR	232,33	66,79	0,365	F=1,88, p=0,162
Bajo R:FR	253,27	36,84	0,659	F=1,88, p=0,162

La Tabla 2 muestra el flujo de fotones en el rango de 400–700 nm que inciden sobre una superficie y que pueden ser utilizados por la fotosíntesis por tratamiento. Las mediciones fueron realizadas mediante un sensor cuántico PAR, registrándose valores expresados en $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$. No hay diferencias significativas en el flujo de fotones entre tratamientos (p-valor = 0,162), lo que indica que la intensidad lumínica fue similar entre condiciones experimentales.

Caracterización fotosintética

Para la determinación de tasa neta de fotosíntesis (Pn), la conductancia estomática (g) y la transpiración (E), las mediciones de intercambio gaseoso se realizaron durante la ola de calor en hojas sanas y completamente extendidas de la cuarta cohorte utilizando un analizador infrarrojo de gases CIRAS-2 (*PPSystem*, MA, EE. UU.).

Las hojas fueron colocadas en la cámara de intercambio gaseoso utilizando toda el área disponible. Fueron expuestas a una densidad de flujo de fotones de 1500 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ provista por el LED interno del equipo. La concentración de CO_2 se mantuvo en 400 ppm y el flujo de aire se ajustó a 200 $\mu mol\ s^{-1}$. Las mediciones se realizaron entre las 08:00 h y las 12:00 h, alternando plantas de distintos tratamientos para evitar efectos asociados al horario de evaluación.

Antes del registro, se esperó aproximadamente 10 a 15 min para la estabilización del CO_2. Durante las mediciones, el déficit de presión de vapor (VPD) osciló entre 2.2 y 2.5 kPa,

lo que sugiere una atmósfera de demanda evaporativa relativa durante la ola de calor en plantas C_4 (Gan & Sage 2024). Las plantas se encontraban bajo condiciones hídricas no limitantes al momento de la medición.

Preparación y conservación del material vegetal

El material foliar fue colectado en dos fases: durante la finalización del tratamiento lumínico y al quinto día de exposición a la ola de calor, en ambos casos entre las 14:00 h y 18:00 h. Las plantas se encontraban en condiciones hídricas no limitantes al momento del muestreo.

Se colectaron hojas completamente desarrolladas (n = 9) en nitrógeno líquido para detener la actividad enzimática, preservar el estado metabólico instantáneo y evitar degradación proteica u oxidación.

El material fue dividido en tres fracciones: la primera fracción fue sometida a liofilización durante 72 h utilizando un liofilizador BK-FD10S (*BIOBASE BIOINDUSTRY Shandong*, China), con condensador a -70 °C y presión aproximada a 5 Pa. El tejido seco fue homogenizado con Bioprep-24R (*Hangzhou Allsheng Instrument*, China) hasta obtener un polvo fino y homogéneo, el cual fue almacenado con gel sílica hasta uso.

La segunda fracción fue pulverizada en mortero preenfriado con nitrógeno líquido, evitando cualquier descongelamiento visible. El material fue almacenado en tubos Eppendorf de 2 mL a -80 °C por un periodo de 2 meses antes de los ensayos bioquímicos.

La tercera fracción fue almacenada aún sin procesar a -80 °C para estudios posteriores.

Análisis bioquímicos

Los análisis bioquímicos se realizaron mediante ensayos colorimétricos basados en espectrofotometría. La absorbancia se realizó en un lector de microplacas Infinite® 200 PRO (Tecan Group Ltd., Männedorf, Suiza), en microplacas estándar.

Cuantificación de contenido de proteínas solubles totales

El contenido de proteínas solubles totales fue determinado mediante el método de Bradford (Bradford 1976), con modificaciones utilizando reactivo comercial (Cat.

#5000006, *Bio-Rad Laboratories*, CA, EE.UU.). Se emplearon 100 mg de tejido foliar fresco previamente congelado y pulverizado (n = 5).

El tejido fue homogenizado en 800 μl de tampón de extracción (50 mM de HEPES-KOH (pH 7,8), 10 mM de $MgCl_2$, 1 mM EDTA, 5mM de DTT y 0,1 % (v/v) de Triton X-100). La mezcla fue agitada durante 10 min y posteriormente centrifugada a 8000 rpm durante 5 min a 4 °C. Del sobrenadante se tomaron 230 μl a los cuales se añadieron 70 μl de SDS al 10 % (p/v). La mezcla se incubó a 65 °C durante 10 minutos y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Para la cuantificación, se sembraron 25 μl de muestra y 200 μl de reactivo Bradford (dilución 1:3) en microplaca. La absorbancia fue medida a 595 nm. Cada muestra fue analizada por triplicado técnico. La concentración se determinó mediante una curva de dilución seriada ($2\ mg \cdot ml^{-1}$) de cinco puntos construida con albúmina sérica bovina (BSA) como patrón, dentro del rango lineal del método ($R^2 = 0{,}9996$).

El contenido de proteínas se expresó como mg de proteína en g de masa fresca ($mg\ proteina\ g^{-1}MF$).

Cuantificación de azúcares solubles totales.

La cuantificación de azúcares solubles totales fue realizada mediante el método de antrona descrito por Yemm & Willis (1954), con modificaciones en las condiciones de extracción y volúmenes de reacción. Este método se basa en la reacción de carbohidratos solubles con antrona en medio ácido, formando un complejo coloreado cuya absorbancia es proporcional a la concentración de azúcares.

A 10 mg de material foliar liofilizado (n = 5) se les realizó una extracción única con 1 mL de etanol al 85 % (v/v) en tubos de 2 mL, manteniéndose en agitación durante 12 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min y el sobrenadante fue recuperado para su análisis, conservándose el pellet para la determinación de almidón.

Para la cuantificación, se tomaron 50 μl del sobrenadante y se mezclaron con 1,5 mL de reactivo de antrona ($1{,}5\ g \cdot L^{-1}$ de antrona ($C_{14}H_{10}O$) en ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 72

% (v/v) preparado en etanol al 85 %, bajo campana y en hielo). Las muestras se mantuvieron en hielo y protegidas de la luz hasta su incubación a 100 °C durante 10 min para el desarrollo del color. Luego de enfriar las muestras, se midieron a 630 nm en espectrofotómetro, utilizando 200 μl por triplicado técnico. Los resultados se expresaron como mg equivalente de sacarosa por g de masa seca ($mg\ sacarosa\ g^{-1}MS$).

Cuantificación de Almidón

El contenido de almidón se determinó a partir del pellet residual obtenido tras la extracción de azúcares solubles, siguiendo el método descrito por Smith & Zeeman (2006), utilizando la cuantificación fenol y ácido sulfúrico con volúmenes ajustados proporcionalmente al 50 % respecto al protocolo original.

El pellet fue secado para eliminar residuos de etanol a 50 °C durante 4 h. Luego, se resuspendió en 200 μl de etanol al 47,5 % (v/v) y 1,2 mL de agua destilada, y se incubó a 100 °C durante 30 min para gelatinizar el almidón. Tras enfriar en hielo, se prepararon los blancos. Se añadieron 400 μl de solución de amiloglucosidasa (1,45 $mg \cdot ml^{-1}$ en tampón de acetato de sodio 0,1 M, pH 4,8) para la hidrólisis enzimática del almidón, y se incubó durante 12 h a 45 °C. Posteriormente, los tubos fueron enfriados en hielo y centrifugados.

Del sobrenadante se tomaron 0,25 mL y se añadió 0,5 mL de fenol al 2 % (v/v) y 1,25 mL de ácido sulfúrico concentrado. Las muestras se incubaron durante 10 min en oscuridad para el desarrollo del color, se enfriaron en agua durante 5 min y se dispusieron 200 μl en triplicado en microplaca para su lectura a 490 nm en espectrofotómetro.

La concentración de glucosa liberada fue determinada mediante una curva estándar preparada con glucosa (2 $mg \cdot ml^{-1}$). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de glucosa por g de masa seca ($mg\ glucosa\ g^{-1}MS$).

Cuantificación de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores

Para la cuantificación de pigmentos se utilizaron 200 mg de material foliar fresco (n = 5). La determinación se realizó según Lichtenthaler (1987) a partir de la extracción con metanol al 80 % (v/v), donde se midieron a diferentes absorbancias 750 nm, 665 nm, 652 nm y 480 nm. Posteriormente se calculó Clorofila *a* $C_a = 16.82\, A_{665} - 9.28\, A_{652}$, Clorofila *b* $C_b = 36.92\, A_{652} - 9.28\, A_{665}$ y Carotenoides totales $C_{x+c} = \frac{1000A_{480} - 1.91C_a - 95.15C_b}{225}$.

El contenido relativo de antocianinas se determinó mediante un método espectrofotométrico basado en el principio del método diferencial de pH. Los extractos fueron ajustados a condiciones de acidificación con ácido clorhídrico y con citrato (Karakashova *et al.* 2022). La absorbancia se midió a 520 nm y se corrigió por turbidez mediante la lectura a 750 nm. Se calculó antocianina con $\Delta A = A_{520}^{HCl} - A_{520}^{Citrato}$ luego de ser corregidas. Este enfoque estima la fracción de pigmentos estructuralmente convertibles a la forma flavilio, característica de las antocianinas pH dependientes y no incluye betalaínas ni la mayoría de otros flavonoides (porque o absorben igual en ambos medios, o su absorción no cambia drásticamente con pH). La fracción de la señal que depende estrictamente de pH fuerte.

Actividad enzimática antioxidante

Las actividades enzimáticas se determinaron a partir de extractos (n = 5) obtenidos bajo condiciones frías, manteniéndose en hielo durante todo el procedimiento. Los extractos se almacenaron a -20 °C hasta su uso. Para la actividad de enzimas antioxidantes se utilizó en general la metodología dispuesta por Palma et al. (2014).

La actividad de ascorbato peroxidasa **(**APX EC 1.11.1.11) se determinó por la disminución de absorbancia a 290 nm debida a la oxidación del ascorbato en presencia de H_2O_2. La actividad de catalasa (CAT EC 1.11.1.6) se cuantificó midiendo la disminución en absorbancia a 240 nm asociada a la descomposición del H_2O_2. La

actividad de glutatión reductasa (GR) se evaluó mediante la disminución de absorbancia a 340 nm asociada a la oxidación de NADPH.

Las mediciones fueron realizadas de manera cinética, registrando múltiples puntos entre el tiempo inicial y el final de reacción. La actividad enzimática se calculó a partir de la pendiente de variación de absorbancia ($\Delta A \cdot min^{-1}$), corrigiendo por el blanco correspondiente de reacción. El contenido de proteína presente en el volumen de extracto utilizado en cada ensayo fue determinado previamente con el método de Bradford, utilizando una curva estándar de BSA. Las actividades se expresaron como $\Delta A \cdot min^{-1}\ mg\ proteina^{\cdot 1}$ como previamente descrito.

Capacidad antioxidante total (DPPH)

La capacidad antioxidante total se determinó mediante el ensayo con el radical libre DPPH (Gulcin & Alwasel 2023). Se preparó una solución de trabajo diario a 0.1 mM mediante dilución con metanol puro. El extracto antioxidante se obtuvo a partir de 200 mg de tejido fresco (n = 5) mediante extracción con 2 mL de metanol al 80 %. El tejido fue homogenizado y mantenido en oscuridad durante 30 min, seguido de centrifugación a 10000 rpm durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante fue recuperado para el análisis. El extracto fue preparado de modo que 1 mL correspondiera a 100 mg de tejido fresco.

Para determinar la concentración operativa del trabajo, se evaluaron distintas cantidades de tejido equivalente con el fin de identificar el rango lineal de respuesta del sistema. Se observó que concentraciones superiores a 0,5 mg de tejido generaban respuestas no lineales y de mayor variabilidad en la señal, por lo que se seleccionó 0,5 mg como concentración estándar para las mediciones comparativas.

El extracto fue diluido en metanol al 80 % hasta obtener una concentración de 0,5 mg de tejido por cada 25 μl añadidos a la mezcla de reacción. La reacción final consistió en 225 μl de DPPH a 0,1 mM y 25 μl de extracto diluido. Se incluyeron blancos de metanol, DPPH sin extracto y extracto sin DPPH.

La absorbancia fue registrada en duplicado técnico a 517 nm de manera cinética (0 a 60 min) en oscuridad. En cada ocasión se realizó simultáneamente una curva de calibración

de DPPH, preparada punto a punto entre 0 y 0,1 mM en metanol absoluto. Esto permitió convertir la variación de absorbancia en concentración real de DPPH.

Para el análisis comparativo se utilizó el valor correspondiente al minuto 40, seleccionado por representar la fase estable de la reacción en los extractos de *A. cruentus*. La disminución de DPPH fue cuantificada convirtiendo la variación de concentración (mM) a μmol, considerando el volumen final de reacción. Los resultados se expresaron como μmol de DPPH reducido por mg de tejido ($\mu mol\ mg^{-1}$).

Rendimiento reproductivo

El rendimiento reproductivo fue determinado al final del ciclo de crecimiento para los seis tratamientos experimentales (n = 5). Se cuantificó por planta el peso total de panojas y el peso de semillas. Se distinguieron dos tipos de panoja: apical, correspondiente a la inflorescencia terminal del eje principal y panoja axilar, originadas en las axilas foliares e identificadas por la presencia de hojas (Fig. 3).

Las panojas fueron cosechadas al alcanzar la madurez y tras secado natural en la planta (senescencia). Posteriormente, fueron mantenidas en estufas a 25 °C durante una semana para eliminar humedad residual.

Una vez secas, se midió la longitud del raquis de la panoja apical y de las tres panojas axilares superiores (correspondientes a las tres de mayor tamaño por planta). Asimismo, se determinó el diámetro del raquis en su punto medio utilizando un calibre digital, registrando la medida en el eje de mayor aplanamiento.

Cada panoja fue pesada completa (estructura + semilla) utilizando una balanza analítica con precisión de 0,001 g. Posteriormente, las semillas fueron separadas manualmente y limpiadas, eliminando restos florales para determinar el peso exclusivo de semillas. El peso de la estructura reproductiva sin semillas fue obtenido por diferencia.

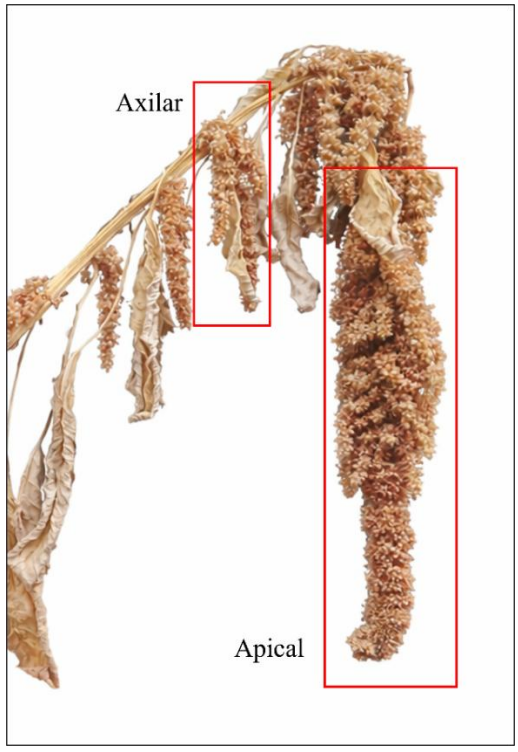

Fig. 3. Criterio de clasificación tipo de panoja en *Amaranthus cruentus*. Los recuadros señalan las estructuras reproductivas. La panoja apical corresponde a la inflorescencia terminal principal, mientras que las panojas axilares emergen desde las yemas laterales.

Para evaluar los parámetros de germinación de las semillas, fueron puestas en oscuridad en cámaras de crecimiento a 25°C ± 1°C. Para cada tratamiento, 20 semillas fueron germinadas en placas Petri con papel absorbente, humedecido con agua destilada, por cuadruplicado. Se evaluó la velocidad media de germinación y tiempo medio de germinación de acuerdo con Ranal & Santana (2006). Los parámetros de germinación fueron monitoreados cada 2 horas por 24 horas. Las mismas semillas germinadas se mantuvieron durante 3 días y se cuantificó el porcentaje de semillas germinadas con éxito y el peso de las plántulas.

Asignación de biomasa a la estructura reproductiva

Para evaluar si los tratamientos modificaron la asignación de biomasa a semillas se ajustó un modelo lineal general tipo análisis de covarianza (ANCOVA). El peso de semilla fue utilizado como variable de respuesta y el peso total de la panoja como covariable continua. Los factores fijos incluidos fueron: luz, temperatura y tipo de panoja.

Inicialmente se evaluó un modelo completo que incluyó interacciones entre covariables y factores, así como interacciones entre factores, sin embargo, no mejoraron el ajuste al modelo, por lo que se ajustó y se adoptó una estructura aditiva de pendientes homogéneas donde Peso Semilla ∼ Peso Total + Luz + Temperatura + Tipo.

El valor β reportado corresponde al coeficiente de regresión, es decir, a la magnitud y dirección del cambio esperado en la variable respuesta ante un cambio de una unidad en la variable predictora, manteniendo constantes los demás predictores. Los efectos fueron evaluados mediante pruebas F utilizando sumas de cuadrados tipo II. Ante evidencia de heterocedasticidad, se estimaron errores estándar robustos para evaluar la estabilidad de las inferencias (Pustejovsky & Tipton 2018). Este análisis fue realizado en Python a través de Visual Studio Code utilizando el paquete *statsmodels* mediante mínimos cuadrados ordinarios. El detalle del proceso de ajuste y selección de modelo se presenta en el Anexo 2.

Análisis estadístico univariados

Para cada variable cuantificada se aplicó un ANOVA factorial de dos vías con interacción, considerando Luz (Control, Alto R:FR, Bajo R:FR) y Temperatura (Ambiente, Ola) como factores. El modelo incluyó la interacción (Luz × Temperatura).

Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se verificaron mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Cuando los supuestos se cumplieron, se interpretaron los efectos principales e interacciones según correspondiese. Cuando se detectaron efectos significativos se realizaron comparaciones múltiples entre niveles mediante la prueba de Tukey HSD ($\alpha = 0{,}05$).

La magnitud del efecto se estimó mediante eta cuadrado parcial ($\eta_P{}^2$) (Levine & Hullett 2002; Norouzian & Plonsky 2017). No se aplicaron puntos de corte universales para la clasificación del tamaño, sino que se interpretaron comparativamente dentro del mismo estudio, tal como recomiendan los autores Norouzian & Plonsky (2017). Las diferencias entre las medias fueron posteriormente analizadas mediante pruebas post hoc de Tukey HSD para identificar qué grupos difieren entre sí.

Para el análisis de intercambio gaseoso se aplicó un ANOVA de una vía considerando como factor Luz, esto, debido a la ausencia de la categoría Temperatura Ambiente.

Análisis multivariado

Para caracterizar la estructura fisiológica global de los tratamientos se aplicó un análisis de componentes principales (PCA) (Anderson 2017) sobre las variables medidas, utilizando la distancia euclidiana.

Como procedimiento estándar, para cuantificar de manera estadística las diferencias multivariadas entre tratamientos se evaluaron formalmente mediante un PERMANOVA factorial basado en permutaciones con los factores Temperatura y Luz. Debido a que este análisis puede verse afectado por la dispersión interna de los grupos, se realizó un análisis de homogeneidad de dispersión multivariada (PERMDISP). Cuando el efecto global resultó significativo, se realizaron comparaciones pareadas *post hoc* con ajuste por tasa de descubrimiento falso (FDR). De esta manera, este enfoque permitió determinar si los tratamientos diferían significativamente en su estructura multivariada general y si dichas diferencias podían atribuirse a cambios en la posición de los grupos en el espacio multivariado, más que a diferencias en su dispersión interna.

RESULTADOS

Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido de proteínas solubles

La temperatura tuvo un efecto significativo global sobre el contenido de proteínas solubles totales en el tejido foliar ($p = 0{,}01118$, $\eta_P{}^2 = 0{,}24$), disminuyendo en condiciones de ola de calor, independientemente de la calidad de luz (Fig. 4). No se detectaron efectos globales de la calidad de luz ni de la interacción Luz × Temperatura ($p > 0{,}05$).

Si bien se observó una disminución consistente del contenido de proteínas totales en condiciones de ola de calor en todos los tratamientos de luz, las comparaciones por pares no detectaron diferencias significativas entre combinaciones específicas tras corrección por múltiples comparaciones. En conjunto, esto indica que la variación del contenido de proteínas solubles totales estuvo determinada principalmente por del efecto de la temperatura más que por la calidad de luz.

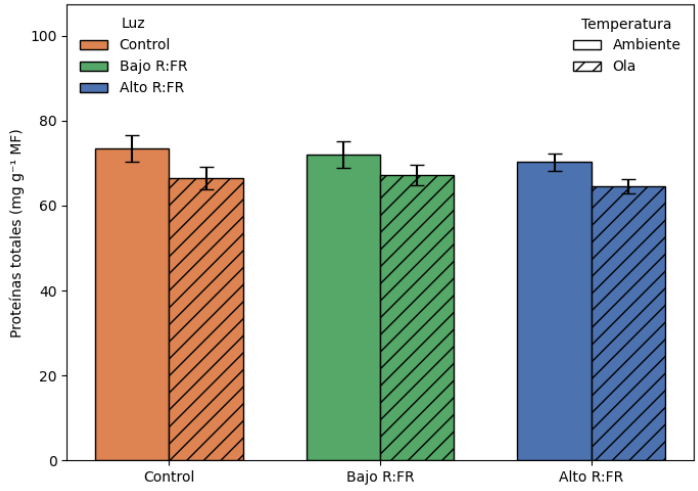

Fig. 4. Contenido de proteínas solubles totales en *A. cruentus* expuestas/sometidas a distintos tratamientos de luz y temperatura. Los colores indican el tratamiento Luz (Control Alto R:FR y Bajo R:FR) y el patrón achurado la condición de Temperatura (Ambiente y Ola). Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Análisis entre tratamientos utilizando ANOVA de dos vías. Ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas entre pares utilizando Tukey HSD como test post hoc ($p < 0{,}05$).

Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores

La Temperatura tuvo efectos significativos globales sobre el contenido de Clorofila *a* (p = 0,033; $\eta_P{}^2$ = 0,18) y Clorofila *b* (p = 0,019; $\eta_P{}^2$ = 0,22), mientras que la calidad de luz no modificó significativamente las concentraciones absolutas de pigmentos (Fig. 5a, b). Si bien se observó un aumento del contenido de Chl*a* y Chl*b* en condiciones de ola de calor a lo largo de todos los tratamientos de luz, las comparaciones por pares no detectaron diferencias significativas entre combinaciones específicas tras corrección por múltiples comparaciones (Fig. 5a, b).

Por otra parte, la Luz y la Temperatura influyeron significativamente sobre la proporción Chl_{Total}/Carotenoides (p = 0,046; $\eta_P{}^2$ = 0,23; p = 0,01; $\eta_P{}^2$ = 0,26, respectivamente). Además, se observó que en condiciones de luz control, no hubo diferencias significativas entre tratamientos de temperatura, mientras que en Alto R:FR y Bajo R:FR, hay un aumento en la proporción Chl_{Total}/Carotenoides en condiciones de Ola de calor, siendo significativo solo para el tratamiento de Alto R:FR (Fig.5e).

No se detectaron efectos significativos globales de la Temperatura, Luz o su interacción en el contenido de Carotenoides totales ni en la relación Chl*a*/Chl*b* (Fig. 5d, e), las comparaciones por pares no mostraron diferencias significativas entre tratamientos de luz al someterlos a la ola de calor. En temperatura ambiente, disminuye de manera significativa pasando de Control a Bajo R:FR (Fig.5b).

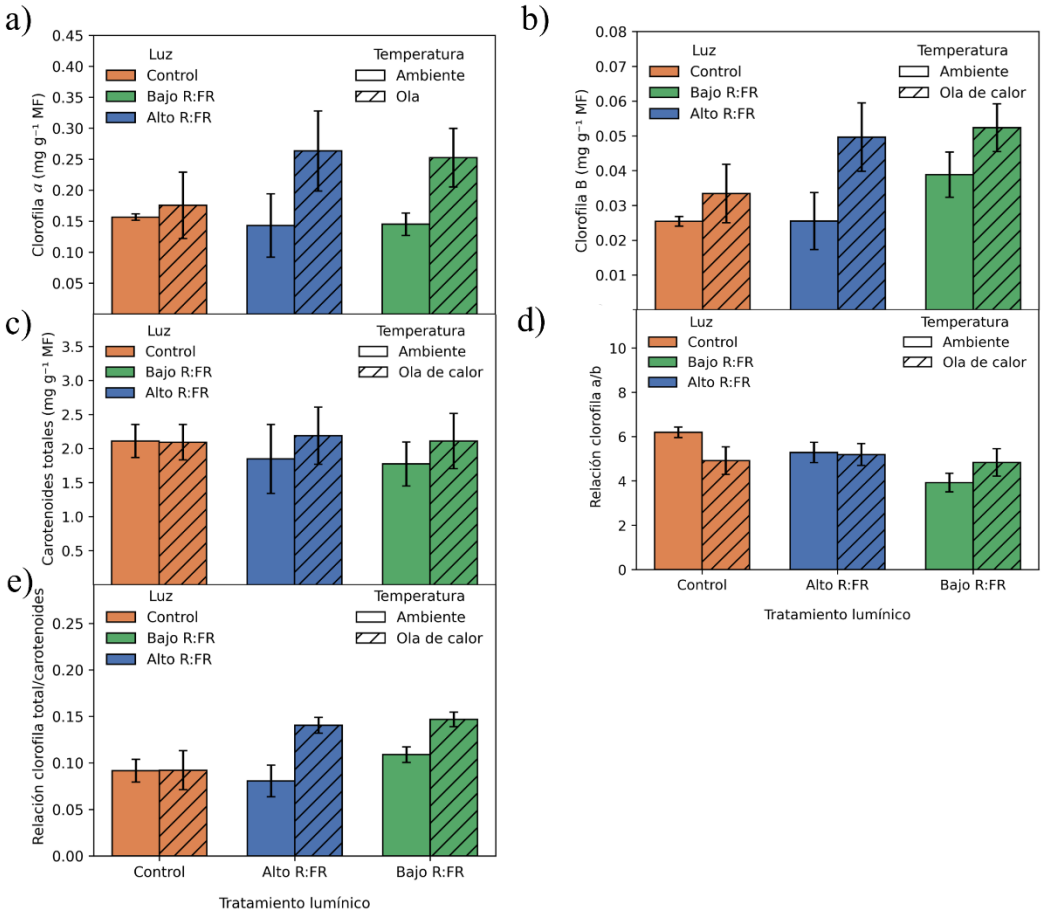

Fig. 5. Contenido de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores en *A. cruentus* sometidas a distintos tratamientos de luz y temperatura. Contenido foliar de (a) clorofila *a*, (b) clorofila *b* y (c) carotenoides totales; y cálculos derivados (d) razón clorofila *a/b*, (e) razón clorofila total/carotenoides. Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Los colores indican el tratamiento Luz (Control Alto R:FR y Bajo R:FR) y el patrón achurado la condición de Temperatura (Ambiente y Ola). La ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas en la interacción de los factores.

Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido Antocianinas.

El contenido total de pigmentos rojos estuvo significativamente influenciado de manera global tanto por la luz (p = 0,016, $\eta_P{}^2$= 0,30), como por la temperatura (p = 0,00006, $\eta_P{}^2 = 0{,}5$), siendo este último el efecto de mayor magnitud. No se detectó interacción significativa Luz × Temperatura (p = 0,28). Además, se observó que la ola de calor incrementó el contenido total de pigmentos rojos en los tratamientos de luz, siendo significativo este aumento para los tratamientos control y bajo R:FR (Fig. 6a).

La porción pH dependiente asociada a antocianinas químicamente activas se vió influenciada significativamente por la temperatura (p = 0,000067, η^2= 0,4) mientras que la luz y la interacción no presentaron efectos globales significativos (Fig. 6b). Por otro lado, ningún factor ni su interacción mostraron un efecto global significativos sobre la fracción pH no dependiente (Fig. 6c). En ambas fracciones (pH dependiente y pH no dependiente) las comparaciones por pares no detectaron diferencias significativas entre combinaciones específicas tras corrección por múltiples comparaciones (Fig. 6b, c).

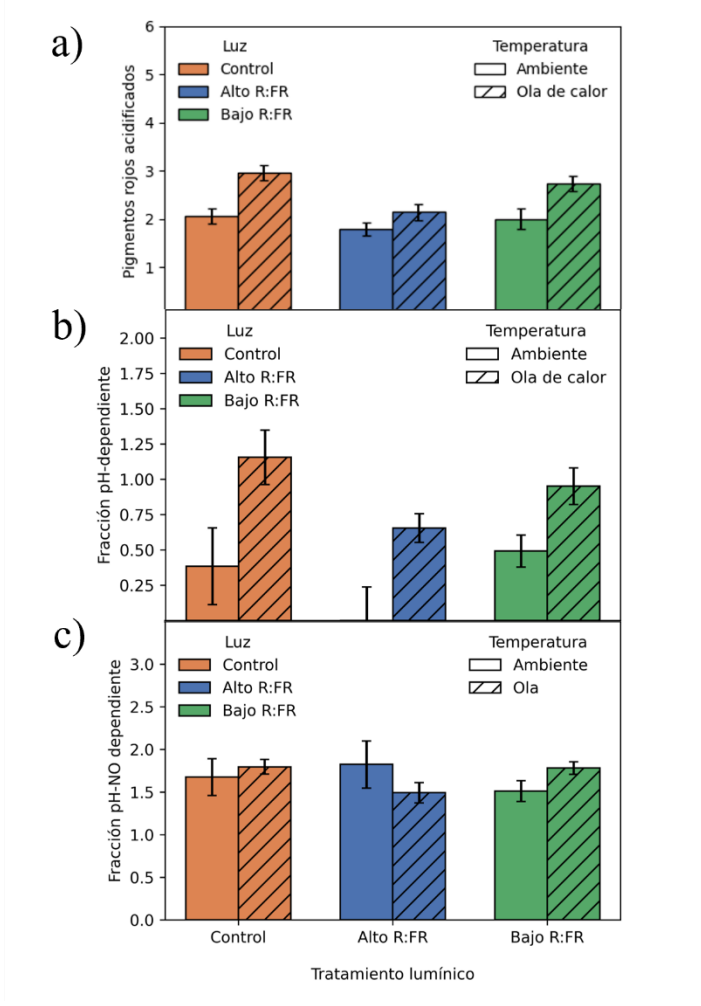

Fig. 6. Contenido de pigmentos rojos acidificados y derivados en *A. cruentus* sometidas a distintos tratamientos de luz y temperatura. El contenido foliar de (A) Pigmentos rojos acidificados totales, el cálculo de la (B) fracción pH dependiente y (C) la fracción pH no dependiente. total. Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Los colores indican el tratamiento Luz (Control Alto R:FR y Bajo R:FR) y el patrón achurado la condición de Temperatura (Ambiente y Ola). Análisis entre tratamientos utilizando ANOVA de dos vías. La ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas en la interacción de los factores.

Efecto de la temperatura y calidad de luz en la fotosíntesis.

La luz tuvo un efecto global significativo entre tratamientos en transpiración (p = 0,007, $\eta_P{}^2$= 0,56), conductancia estomática (p = 0,006, $\eta_P{}^2$ = 0,57) y fotosíntesis neta (p = 0,00001, $\eta_P{}^2$= 0,90).

En cuanto a la Transpiración, el tratamiento Bajo R:FR Ola presentó valores significativamente menores que Alto R:FR Ola y Control Ola (Fig. 7a), mostrando una reducción relativa del 35 %.

De igual manera, el tratamiento Bajo R:FR redujo significativamente un 39 % la Conductancia estomática respecto al Control ola y Alto R:FR (Fig. 7b).

En cuanto a la Fotosíntesis neta, se observó un aumento en condiciones de Alto R:FR respecto al Control y Bajo R:FR del 55 % (Fig. 7c).

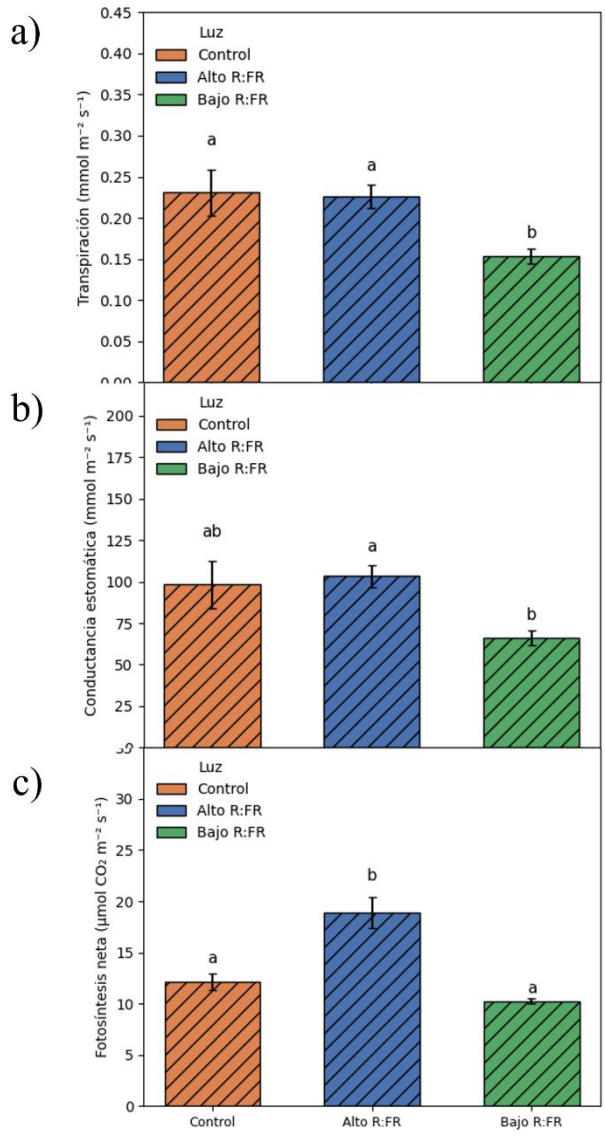

Fig. 7. Respuesta del intercambio gaseoso foliar en *A. cruentus* durante la ola de calor. Los parámetros de intercambio gaseoso medidos son (a) transpiración, (b) conductancia estomática y (c) fotosíntesis neta. Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Los colores indican el tratamiento Luz Control Alto R:FR y Bajo R:FR. Análisis entre tratamientos utilizando ANOVA de una vía. Letras distintas indican diferencia significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Efecto de la temperatura y calidad de luz en el contenido de azúcares solubles totales y almidón.

Respecto a la concentración de azúcares solubles totales, se observó un efecto significativo de la interacción Luz × Temperatura (p = 0,00049, $\eta_P{}^2$ = 0,52), así como un efecto de Luz (p = 0,02581, $\eta_P{}^2$ = 0,29), mientras que Temperatura no presentó efecto global sobre la variable. Se observaron disminuciones significativas de azúcares solubles totales en condiciones de luz control al someter a las plantas a ola de calor (reducción del 43 %), y en condiciones de temperatura ambiente al cambiar de luz control a bajo R:FR (reducción del 50 %). En condiciones de Alto R:FR, la ola de calor no generó cambios significativos en el contenido de azúcares solubles totales (Fig. 8a).

En contraste, el contenido de almidón (Fig.8b) fue afectado significativamente de manera global por la Temperatura (p = 0,01384, $\eta_P{}^2$= 0,24), mientras que ni Luz ni la interacción Luz x Temperatura tuvieron efectos globales significativos.

En condiciones de luz control y bajo R:FR, la ola de calor no generó diferencias significativas entre las muestras, mientras que en Alto R:FR, se observó una disminución significativa del 50 % al someter a las plantas a ola de calor (Fig. 8a).

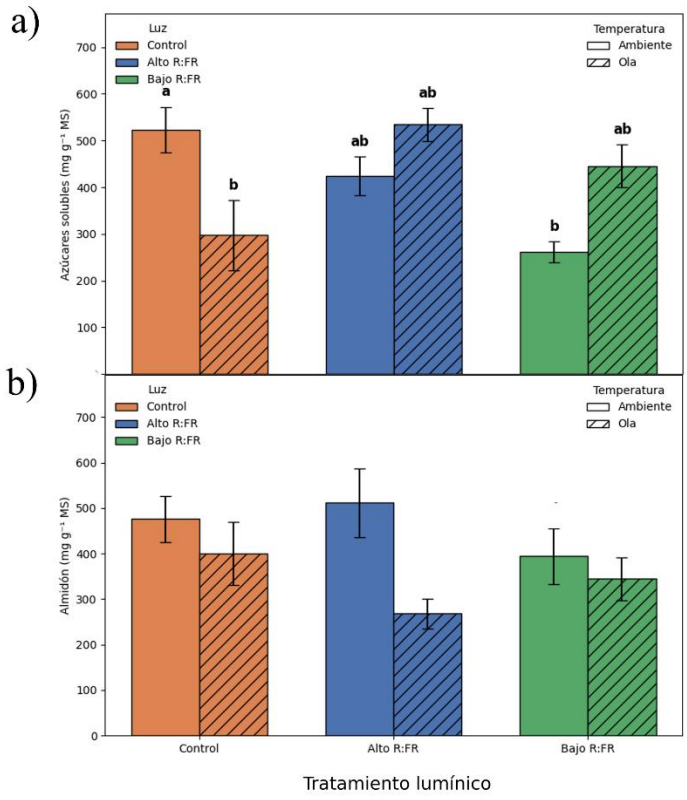

Fig. 8. Contenido de azúcares solubles y almidón en *A. cruentus* sometido a distintos tratamientos de luz y temperatura. El contenido foliar de (a) Azúcares solubles totales y (b) Almidón son representados. Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Los colores indican el tratamiento Luz (Control Alto R:FR y Bajo R:FR) y el patrón achurado la condición de Temperatura (Ambiente y Ola). Análisis entre tratamientos utilizando ANOVA de dos vías. Letras distintas indican diferencia significativas entre pares, y ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas según prueba de Tukey como test post hoc ($p < 0,05$).

Efecto de la temperatura y calidad de luz en componentes del estado antioxidante enzimático y capacidad antioxidante total.

Se exploró el estado redox de la planta y cómo responde a señales ambientales combinadas, para lo cual se evaluaron enzimas clave del sistema antioxidante (GR, APX, CAT) junto con la capacidad antioxidante total (DPPH) bajo distintos tratamientos de luz y temperatura.

La luz tuvo un efecto global significativo sobre la actividad de GR ($p = 0{,}035$, $\eta_P{}^2 = 0{,}25$), mientras que Temperatura ($p = 0{,}93$, $\eta_P{}^2 = 0$) y la interacción ($p = 0{,}37$, $\eta_P{}^2 = 0{,}08$) no fueron significativas. Además, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. En conjunto, esto indica que la variación de la actividad GR estuvo determinada principalmente por el efecto global de la calidad de luz más que por la temperatura (Fig. 9a).

En el caso de la CAT, ningún factor tuvo efectos globales significativos sobre su actividad. Además, aunque se ve tendencia a disminuir la actividad en todas las condiciones de luz al someter a ola de calor, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 9b).

De la misma manera, la actividad de APX no se vio afectada de manera global significativa por ningún factor ni su interacción. Se observó que hubo un aumento en la actividad APX en Alto R:FR respecto al control luz en condiciones de ola de calor, mientras que entre los demás tratamientos no se encontraron diferencias significativas (Fig. 9c).

En contraste con las enzimas individuales, la Luz ($p < 0{,}001$, $\eta_P{}^2 = 0{,}7$) y la interacción Luz x Temperatura ($p = 0{,}0001$, $\eta_P{}^2 = 0{,}58$) tuvieron un efecto altamente significativo sobre la capacidad antioxidante total, mientras que Temperatura no tuvo efecto significativo. Se observó una disminución en la capacidad antioxidante en los tratamientos control y alto R:FR al someterlos a ola de calor, siendo significativo solo para el control. En cambio, hubo un aumento significativo en la capacidad antioxidante en bajo R:FR al someterlo a ola de calor.

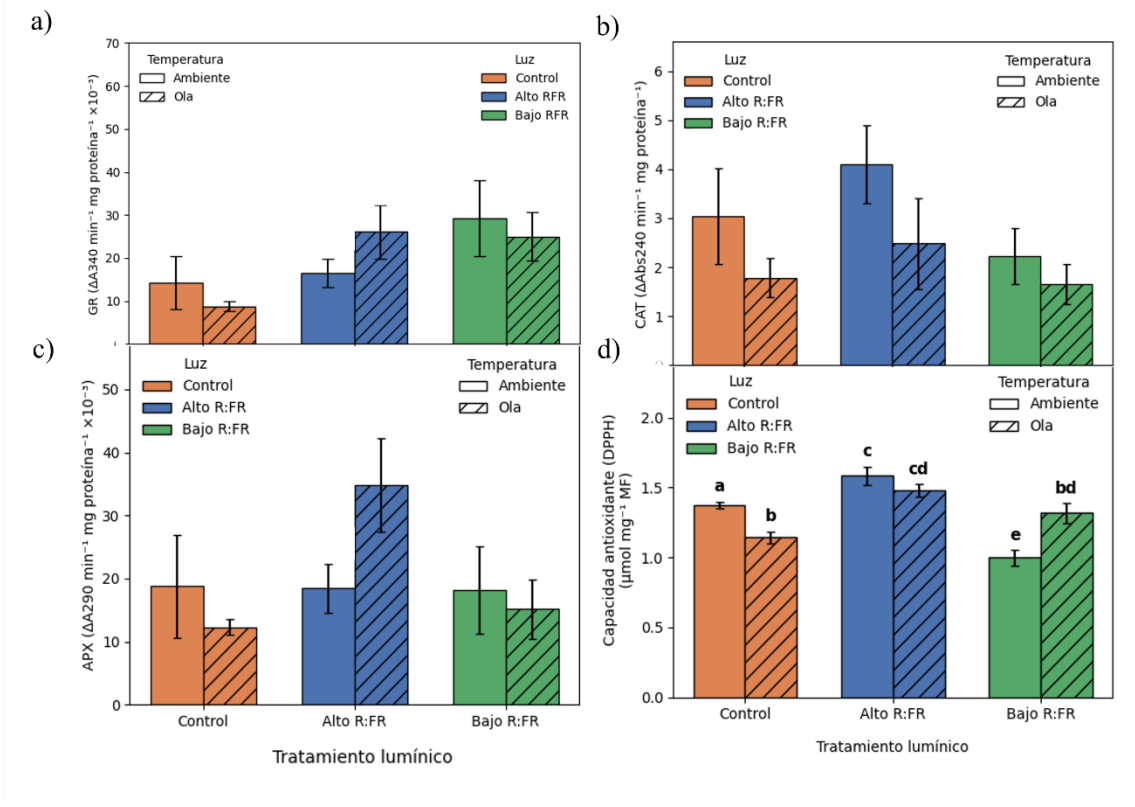

Fig. 9. Modulación del sistema antioxidante en *A. cruentus* sometido a distintos tratamientos de luz y temperatura. Se muestra la actividad en extractos foliares de enzimas antioxidantes como (a) Glutatión reductasa, (b) Catalasa, (c) Ascorbato Peroxidasa y la (d) Capacidad antioxidante total dada por el radical libre DPPH. Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Los colores indican el tratamiento Luz (Control Alto R:FR y Bajo R:FR) y el patrón achurado la condición de Temperatura (Ambiente y Ola). Análisis entre tratamientos utilizando ANOVA de dos vías. Letras distintas indican diferencia significativas entre pares, y ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas según prueba de Tukey como test post hoc ($p < 0,05$).

Atributos reproductivos

La arquitectura de las panojas mostró respuestas diferenciadas entre posiciones apicales y axilares, con efecto significativo de la luz, la temperatura y su interacción en varios rasgos estructurales (Fig. 9).

Panojas apicales

La longitud apical fue significativamente afectada por Luz (p = 0,0011, $\eta_P{}^2$ = 0,22), Temperatura (p = 0,0004, $\eta_P{}^2$ = 0,20) y su interacción (p = 0,00028, $\eta_P{}^2$ = 0,28). Al comparar con Control Ambiente, solo Control Ola mostró una disminución en su longitud apical del 19 %. Por otro lado, se vio incrementada en Alto R:FR Ambiente (9,5 %) y Ola (6,4 %), así como en Bajo R:FR Ambiente (12 %) y Ola (2,7 %).

En el diámetro apical se detectaron efectos significativos de Luz (p = 0,0001, $\eta_P{}^2$ = 0,38), Temperatura (p = 0,023, $\eta_P{}^2$ = 0,079) y su interacción (p = 0,0019, $\eta_P{}^2$ = 0,22), En relación con Control Ambiente, solo Control Ola mostró una disminución en el diámetro apical (25 %). En cambio, para los demás tratamientos lumínicos hubo un incremento generalizado: en Alto R:FR Ambiente un 16 %, Ola un10 %, así como en Bajo R:FR Ambiente con un 20 % y Ola con un 6 %.

El índice de esbeltez presentó efectos significativos en Luz ($\eta_P{}^2$ = 0,28), Temperatura ($\eta_P{}^2$ = 0,21) e interacción ($\eta_P{}^2$ = 0,42) todos con p < 0,001. Considerando a Control Ambiente, solo Alto R:FR Ambiente disminuyó su esbeltez en un 22 %, Bajo R:FR Ambiente aumentó su índice en un 10 %. Por otro lado, en Ola se vio incrementada la esbeltez apical con Control en un 4 %, Alto R:FR 12.8 % y Bajo R:FR 42 %.

Panojas axilares

En la longitud axilar no se detectaron efectos significativos de Luz, Temperatura ni interacción (p > 0,1, $\eta_P{}^2$ = bajos). Respecto al Control Ambiente, Control Ola aumentó de longitud un 13,5 %, Alto R:FR Ola en un 3,2 %. En contraste, disminuyeron Alto R:FR Ambiente (12 %) y Bajo R:FR Ambiente (18,7 %) y Ola (6,4 %).

El diámetro axilar mostró una interacción significativa entre luz y temperatura (p = 0,036, $\eta_P{}^2$ = 0,24), mientras que los factores fueron no significativos. Donde Control Ola mostró un engrosamiento del 11 %, sin embargo, Alto R:FR Ambiente y Ola adelgazaron un 9 %, y Bajo R:FR Ola disminuyó un 24 %.

El índice de esbeltez axilar presentó una interacción significativa (p = 0,01, $\eta_P{}^2$ = 0,31), sin efectos principales detectables. Donde todos los tratamientos aumentaron su esbeltez, tal que Control Ola (54,4 %). Alto R:FR Ambiente (15 %) y Ola (17 %), así como Bajo R:FR Ambiente (35 %) y Ola (4,4 %).

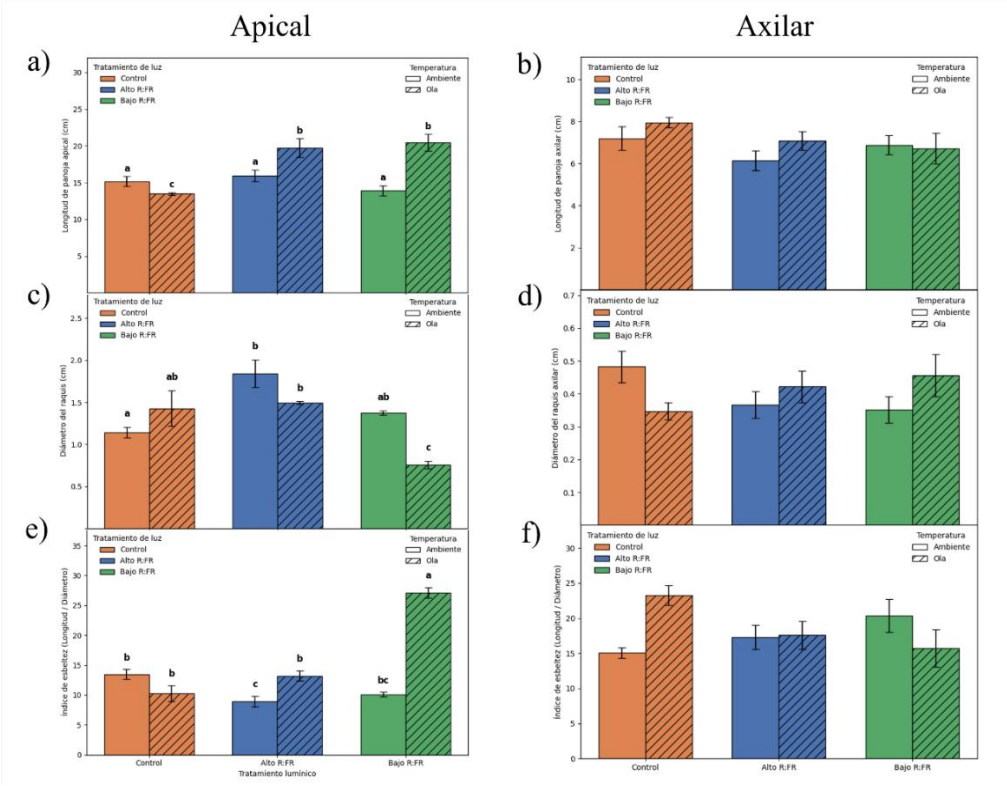

Fig. 10. Longitud y diámetro del raquis de panoja apical y axilar. Se muestran características de panoja Apical (a) Longitud, (c) Diámetro, (e) Esbeltez, y de panoja Axilar (b) Longitud, (d) Diámetro, (f) Esbeltez. Cada barra representa el promedio (± error estándar), n = 5 por combinación de tratamiento. Los colores indican el tratamiento Luz (Control Alto R:FR y Bajo R:FR) y el patrón achurado la condición de Temperatura (Ambiente y Ola). Análisis entre tratamientos utilizando ANOVA de dos vías. Letras distintas indican diferencia significativas entre pares, y ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas según prueba de Tukey como test post hoc (p < 0,05).

Peso de inflorescencia y semillas

En relación con el peso (Tabla 3) de panoja apical de Control Ambiente, solo Control Ola presentó una disminución del 17 %. En cambio, se incrementó en Alto R:FR Ambiente (10,9 %) y Ola (5,4 %) así como Bajo R:FR Ambiente (16,5 %) y Ola (1 %). Respecto al peso de semillas en panojas apicales en Ambiente mostraron valores similares a 5 g en los tres tratamientos lumínicos. Sin embargo, en Ola, el grupo Control redujo su peso en un 27,5 %. (ANOVA de dos vías con interacción $p = 0,04$). En contraste se mostró una reducción no significativa en Alto R:FR (3,3 %) y un incremento en Bajo R:FR (1,7 %). Respecto al grupo Control Ambiente, el peso de panoja axilar mostró un aumento del 11 % en Control Ola, sin embargo, los demás tratamientos vieron reducido su peso en un 10 %, destacando Bajo R:FR Ola con un 24 %. El peso de semillas en Control Ola no se vio afectado porcentualmente, y Alto R:FR Ola aumentó en un 3,6 %. Sin embargo, se vieron reducido el peso de los tratamientos Alto R:FR Ambiente (17 %) y Bajo R:FR Ambiente (26 %) y Ola (25 %).

Tabla 3. Asignación reproductiva en panojas. Se presentan medias ± desviación estándar del peso de semillas y peso de la panoja (sin semilla) calculados (n = 5 plantas por tratamiento). Las panojas apicales y axilares se analizan por separado para capturar diferencias en asignación.

Tratamiento	Panoja	Peso semillas (g)	Peso panoja (g)
Control Ambiente	Apical	5,17 ± 1,1	3,44 ± 0,5
Control Ambiente	Axilar	3,96 ± 0,5	2,59 ± 0,2
Control Ola	Apical	3,74 ± 0,5	2,84 ± 0,8
Control Ola	Axilar	3,96 ± 1,2	2,89 ± 0,4
Alto R:FR Ambiente	Apical	5,0 ± 0,4	3,82 ± 0,5
Alto R:FR Ambiente	Axilar	3,29 ± 0,9	2,32 ± 0,8
Alto R:FR Ola	Apical	4,9 ± 0,4	3,63 ± 0,9
Alto R:FR Ola	Axilar	4,1 ± 0,8	2,27 ± 0,6
Bajo R:FR Ambiente	Apical	5,0 ± 0,5	4,0 ± 1,2
Bajo R:FR Ambiente	Axilar	2,94 ± 1,3	2,4 ± 1,1
Bajo R:FR Ola	Apical	5,25 ± 1,1	3,48 ± 0,7
Bajo R:FR Ola	Axilar	2,97 ± 0,7	1,97 ± 0,4

Modelo de asignación

La relación entre el peso total de la estructura reproductiva (panoja + semilla) y el peso de semillas se evaluó mediante un modelo ANCOVA incorporando Luz, Temperatura y Tipo de panoja como factores fijos y el peso total como covariable.

La evaluación de homogeneidad de pendientes, mediante la inclusión de interacciones entre covariables y los factores, no evidenció efectos significativos (Peso total × Luz $p = 0{,}166$; Peso total × Temperatura $p = 0{,}43$; Peso total × Tipo de panoja $p = 0{,}34$).

En el modelo con pendientes homogéneas el peso total mostró un efecto altamente significativo sobre el peso de semillas ($F = 277{,}95$, $p < 0{,}0001$). El modelo explicó el 83,7 % de la variación total ($R^2 = 0{,}837$, R^2 ajustado = 0,825). El coeficiente estimado indicó que, en promedio, por cada gramo adicional de peso total, el peso total de semillas aumentó 0,54 g ($\beta = 0{,}54 \pm 0{,}043$ EE robusto $p = 0{,}001$).

Al controlar el efecto del tamaño total, no se detectaron efectos significativos de luz ($p = 0{,}799$), Temperatura ($p = 0{,}406$) ni Tipo de panoja ($p = 0{,}726$). La comparación de modelos indicó que la incorporación del tipo de panoja o de interacciones no mejoró sustancialmente el ajuste ($\Delta AIC < 3$, $p > 0{,}3$).

Dado los residuos evidenciaron heterocedasticidad, el modelo fue ajustado utilizando errores estándar robustos (HC3), sin que ello modificara las inferencias principales.

Los tratamientos modificaron el tamaño total de la estructura reproductiva, pero no cambiaron la biomasa destinada a semillas. El peso de semillas aumentó de manera lineal con el peso total, manteniendo la misma relación entre tratamientos.

Aunque el modelo global mostró una relación lineal fuerte ($R^2 = 0{,}83$), el ajuste fue mayor en panojas axilares ($R^2 = 0{,}87$) que en apicales ($R^2 = 0{,}63$). Esta diferencia se revisó en el siguiente modelo.

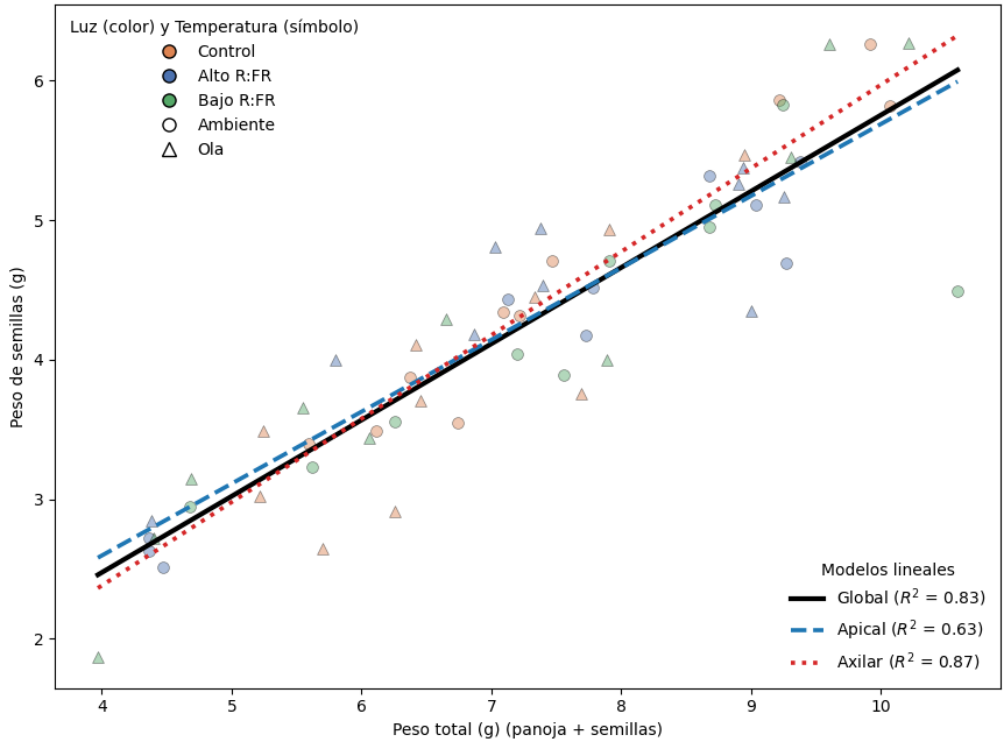

Fig. 11. Relación peso total panoja y peso de semillas. El peso de semillas aumenta linealmente con el peso total (panoja + semillas). Los puntos representan observaciones individuales, diferenciadas por tratamiento lumínico (color) y condición de temperatura (símbolo). La línea negra corresponde al ajuste lineal global del modelo ANCOVA, mientras que las líneas segmentadas muestras los ajustes por tipo de panoja apical y axilar.

Relación entre morfología y producción de semillas

Con el objetivo de determinar si la producción de semillas depende del tamaño estructural de la panoja, y, si esta relación difiere entre los tipos de panoja, se ajustó un modelo (Fig. 12) que incluyó la interacción entre tipo de panoja y las variables estructurales. Este modelo fue significativo (R^2 = 0,622, p = 0,001) y la interacción entre tipo de panoja y peso total fue significativa (β = 0,836, p = 0,006), indicando que la relación entre longitud y producción no es equivalente en panojas apicales y axilares.

Al analizar cada panoja por separado se observaron patrones contrastantes. En panojas apicales, la producción de semillas se asoció significativamente con la longitud del raquis (β = 0,220, p = 0,004), mientras que el peso total de la panoja no mostró asociación

significativa (p = 0,643). En cambio, en panojas axilares, el peso total de la panoja fue un fuerte predictor de la producción (β = 0,917, p = 0,0005), mientras que la longitud no resultó significativa (p = 0,2).

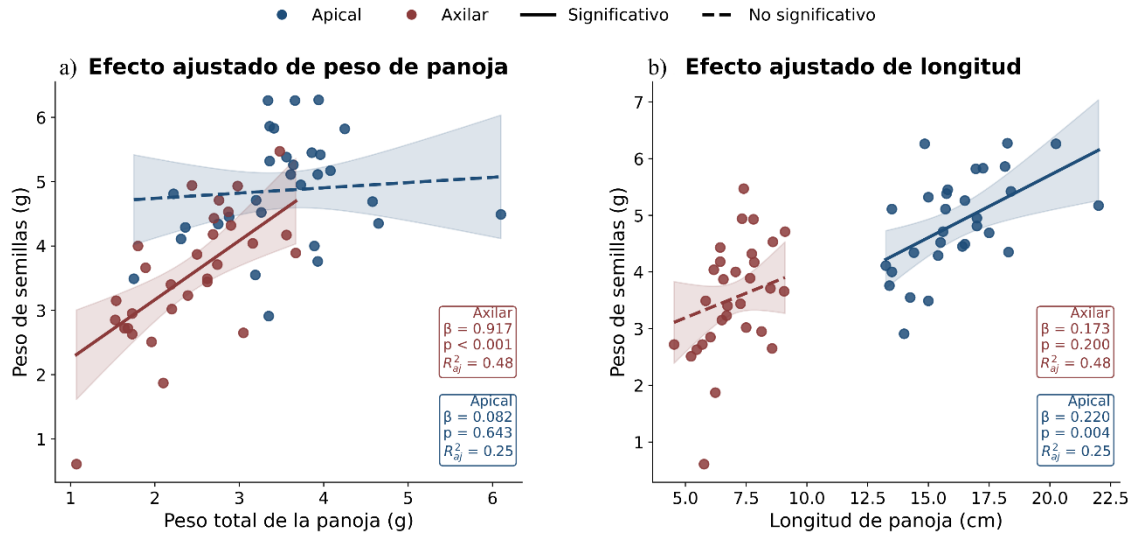

Fig. 12. Interacción entre tipo de panoja y tamaño sobre la producción de semillas. Las líneas corresponden a los efectos ajustados del modelo con interacción entre tipo de panoja y variable estructural. Las líneas continuas indican relaciones significativas y las líneas discontinuas relaciones no significativas. En ambos paneles se controla el tipo de panoja modelando la (a) Relación entre peso total de la panoja con peso de semillas y la (b) Relación entre longitud de panoja y peso de semilla. Los recuadros muestras los coeficientes β, valores de p y R^2 ajustados para cada tipo de panoja.

Posteriormente, se evaluó si los tratamientos modificaban la producción de semillas. En panojas axilares no se detectaron efectos significativos de luz, temperatura ni su interacción (p = 0,231). En panojas apicales, en cambio, se detectó una interacción significativa entre luz y temperatura (p = 0,049), correspondiente específicamente a una reducción en la producción bajo la combinación Control Ola de calor. En este tratamiento, el peso de semillas disminuyó en promedio 1,43 g respecto al Control Ambiente (Tabla 3), lo que equivale una reducción del 28 %. Esta disminución no se observó en los tratamientos R:FR, donde la producción tuvo valores similares entre condiciones de temperatura.

Sin embargo, al incorporar la longitud del raquis como covariable en el modelo, la interacción entre luz y temperatura dejó de ser significativa ($p = 0,185$), mientras que la longitud (Fig. 12b) permaneció como predictor significativo de la producción ($\beta = 0,189$, $p = 0,015$).

Parámetros asociados a la germinación y viabilidad de semillas.

El tiempo medio de germinación (MGT) se concentró entre las 18 y 22 horas después de iniciado el experimento de germinación y se observaron cambios cuantificables asociados a la combinación entre calidad de luz, temperatura y posición de la panoja (Tabla 4).

En semillas apicales, Bajo R:FR incrementó su MGT desde 18,17 ± 0,62 h en Ambiente a 21,42 ± 1,86 h en Ola, lo que representa un aumento absoluto de 3,25 h (18 % de retraso). En contraste, de Ambiente a Ola, Control redujo su MGT de 19,16 h a 18,30 h (4,5 %), mientras que Alto R:FR aumentó de 19,02 h a 19,93 h (4,8 %). En semillas axilares las variaciones fueron menores. Respecto a Ambiente y Ola, Bajo R:FR aumentó su MGT 0,91 h (4,8 %), Control lo redujo en 1,81 h (8,9 %) y Alto R:FR una disminución de 0,37 h (1,9 %).

Respecto a la media de germinación, durante la fase activa (12 a 24 h), las diferencias acumuladas dependieron del tipo de panoja. En panojas apicales, Alto R:FR descendió un 37 % entre Ambiente y Ola, Control aumentó 3,8 % y Bajo R:FR disminuyó 2,3 %. En panojas axilares se observó otro patrón. Aumentaron su germinación media Alto R:FR en 27,1 %, Control un 14,5 % y Bajo R:FR en 14 %.

La acumulación de plántulas germinadas con éxito a las 64 h una vez comenzada la germinación mostró que una disminución entre Ambiente y Ola en Control de 92,25 % a 87,5 % y Bajo R:FR de 85 % a 75,5 %, mientras que Alto R:FR aumentó de 95 % a 98,75 %.

Tabla 4. Dinámica de germinación y desempeño. La tabla muestra el tiempo medio de germinación (MGT en horas), el tiempo promedio de germinación (horas), el porcentaje de éxito de germinación, la biomasa promedio por plántula germinada (g) y el peso promedio por plántula germinada (g). Los valores se expresan como media ± desviación estándar cuando corresponde. El diseño consideró una estructura factorial con Tipo de panoja × Luz × Temperatura (n = 4 placas Petri por combinación), con 20 semillas por placa.

Tratamiento	**Panoja**	**Media de MGT (h)**	**Germinación $\bar{X}$ (h)**	**Éxito %**	**Biomasa (g) Germinado**	**Peso / germinados (g)**
Control Ambiente	Apical	19,16 ±1,1	13,25 ± 2,2	92,25	0,125 ± 0,02	0,027
Control Ambiente	Axilar	20,31 ± 1,4	13,75 ± 2,8	95,00	0,110 ± 0,01	0,023
Control Ola	Apical	18,30 ± 0,9	13,75 ± 4,1	87,50	0,094 ± 0,05	0,019
Control Ola	Axilar	18,50 ± 1,5	15,75 ± 1,2	100	0,124 ± 0,01	0,025
Alto R:FR Ambiente	Apical	19,02 ± 1,5	16,25 ± 2,2	95	0,102 ± 0,06	0,020
Alto R:FR Ambiente	Axilar	19,2 ± 1	12,00 ± 3,4	88,75	0,121 ± 0,01	0,026
Alto R:FR Ola	Apical	19,92 ± 0,8	10,25 ± 5,1	98,75	0,122 ± 0,01	0,028
Alto R:FR Ola	Axilar	19,85 ± 0,9	15,25 ± 3,4	92,50	0,136 ± 0,01	0,031
Bajo R:FR Ambiente	Apical	18,17 ± 0,6	10,75 ± 1,5	85,00	0,105 ± 0,04	0,024
Bajo R:FR Ambiente	Axilar	19,10 ± 1,2	10,75 ± 2,2	86,25	0,115 ± 0,01	0,028
Bajo R:FR Ola	Apical	21,42 ± 1,8	10,5 ± 4,1	77,5	0,094 ± 0,01	0,024
Bajo R:FR Ola	Axilar	20,0 ± 0,8	12,25 ± 2,6	78,75	0,096 ± 0,01	0,024

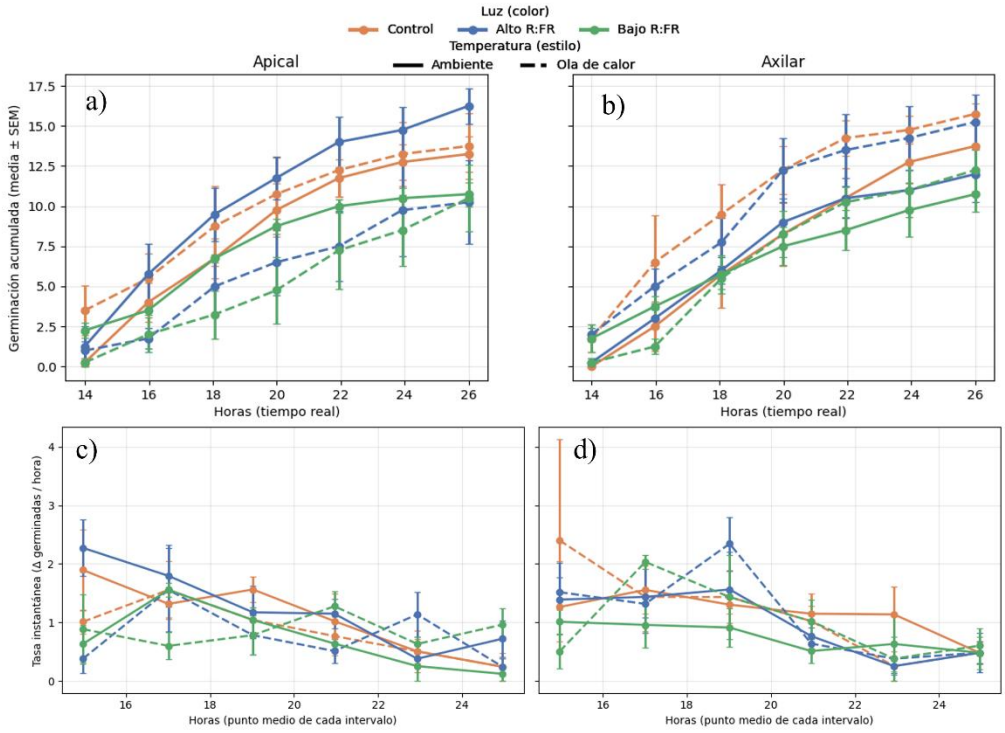

Fig. 13. Curva acumulada de germinación de semillas. Se presenta la germinación acumulada (media ± error estándar de la media) a lo largo del tiempo de evaluación para semillas de panoja apical (a) y axilar (b). La tasa instantánea de germinación (Δ Semillas germinadas $\cdot\ h^{-1}$, media $\pm$ error estándar de la media) calculada a partir de las diferencias sucesivas entre tiempos, para semillas apicales (c) y Axilares (d). Los colores representan el tratamiento Luz, mientras que las líneas continuas corresponden a la condición Ambiente y líneas discontinuas a la condición Ola.

El análisis longitudinal mediante ecuaciones de estimación generalizadas (*Generalized Estimating Equations*, GEE) indicó que en semillas apicales la germinación en la condición de referencia (Control Ambiente) tiene una tasa de 1,101 semillas por hora ($p < 0{,}001$). Bajo R:FR Ambiente redujo la pendiente temporal en – 0,335 semillas/h ($p = 0{,}004$) equivalente a una disminución del 30,5 % en la velocidad de acumulación, mientras que Bajo R:FR Ola fue de -0,246 semillas/h (22,4 %). Por su parte, Alto R:FR Ambiente aumentó en 0,108 semillas/h, es decir, 9,8 %, pero en Ola disminuyó en -0,273 semillas/h (24,7 %), similar a Control Ola con una reducción de -0,21 semillas/h (19 %).

En semillas axilares, la condición de referencia (Control Ambiente) presentó una tasa de acumulación de 1,191 semillas por hora ($p < 0,001$). Bajo R:FR redujo significativamente la pendiente en Ambiente (-0,433 semillas/h $p = 0,001$), equivalente a una reducción del 37,2 %, atenuándose en Ola (-0,112 semillas/h, 9,4 %). Ni la ola de calor en Control, ni las interacciones asociadas a Alto R:FR modificaron significativamente la pendiente temporal Control Ola con -0,058 semillas/h (4,9 %), Alto R:FR Ambiente -0,192 semillas/h (16,2 %) y Ola con -0,045 semillas/h (3,8 %).

Los tamaños de efecto mostraron que se explica el 63,7 % de la varianza en semillas apicales y 71,3 % en axilares, mientras que la inclusión del efecto aleatorio elevo la varianza explicada total a 89,5 % y 86,5 respectivamente. La heterogeneidad entre individuos fue mayor en apical (ICC = 0,71) que en axilar (ICC = 0,53).

Análisis multivariado

Los perfiles fisiológicos muestran una diferenciación multivariada consistente entre tratamientos. Los análisis multivariados reflejan un patrón de ordenamiento de acuerdo con los tratamientos. El PCA mostró que los dos primeros componentes explican un 52,19 % en proporción de la variación total en condición Ambiente (PC1 = 32,26 %, PC2 = 19,93 %) y 61,86 % en Ola (PC1 = 40,14 %, PC2 = 21,72 %), observándose una separación parcial en función de los tratamientos lumínicos.

La diferencia estuvo principalmente dada por pigmentos fotosintéticos, metabolitos primarios y variables antioxidantes, los cuales contribuyen a la separación de los grupos.

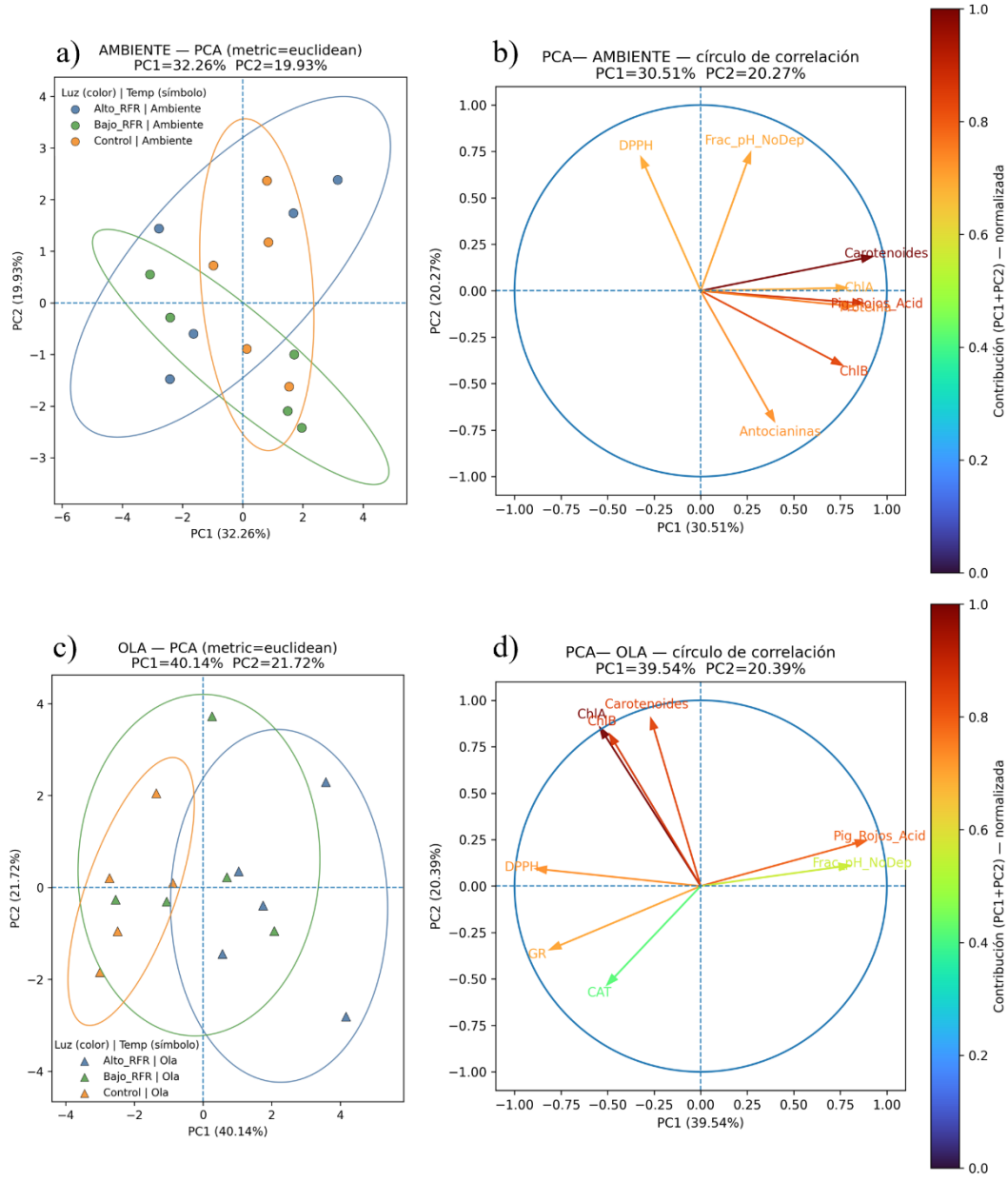

Fig. 14. Análisis de componentes principales de variables cuantificadas. La figura muestra el ordenamiento de las variables en los tratamientos, para Ambiente la proyección de los individuos (A) PCA y el (B) Círculo de correlación. Para Ola se observa la proyección de los individuos (C) PCA y para (D) Círculo de correlación. Los colores representan los tratamientos lumínicos. Las elipses indican la dispersión multivariada por tratamiento. En los círculos de correlación, las flechas representan la dirección y magnitud de la contribución de cada variable a los componentes principales, y la intensidad de color indica la contribución normalizada (PC1 + PC2). Los porcentajes

corresponden a la varianza explicada por cada componente. La contribución de las variables a los ejes principales se interpretó con círculos de correlación.

El análisis de PERMANOVA factorial confirmó de manera estadística que tanto Luz como Temperatura afectan significativamente la estructura multivariada y que existe una interacción entre ambos factores. Con distancia euclidiana, los efectos fueron significativos para Luz ($p = 0,001$) Temperatura ($p = 0,001$) e interacción ($p = 0,019$). Este patrón se replicó con distancia Manhattan, donde también se detectaron efectos significativos, indicando que ambos factores explican proporciones comparables de variación multivariada.

El análisis de dispersión multivariante (PERMDISP) no detectó diferencias significativas en la dispersión entre grupos ($p = 0,298$), lo que indica que las diferencias detectadas por PERMANOVA se deben principalmente a cambios en la posición de los centroides en el espacio multivariado y no a heterogeneidad en la variabilidad interna de los grupos.

Los análisis *post-hoc* dentro de cada condición de Temperatura mostraron que en Ola e, contraste entre Control y Alto R:FR fue significativo ($p = 0,008$), mientras que los demás contrastes no fueron significativos. En condición Ambiente ninguna comparación alcanzó significancia tras corrección FDR, aunque algunas diferencias presentaron valores cercanos al umbral estadísticos mostrando algunas tendencias.

Esto indica que los tratamientos generaron respuestas fisiológicas diferenciadas en el espacio multivariado. Tanto el PCA mostró separación parcial entre grupos dentro de cada condición de Temperatura, indicando que los tratamientos se asocian a perfiles fisiológicos integrados distintos más que a cambios aislados en variables individuales. El PERMANOVA factorial confirmó estos efectos significativos de luz, temperatura e interacción sobre esta estructura multivariada, es decir, que ambos factores contribuyen de manera comparable a la variación total, y que si combinación modifica adicionalmente el patrón global de respuesta. A su vez, las diferencias observadas responden al desplazamiento en la posición multivariada de los tratamientos y no a cambios en la variabilidad.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la respuesta de *Amaranthus cruentus* a la ola de calor estuvo determinada tanto por la temperatura como por el tratamiento lumínico previo. En particular, la relación R:FR condicionó la respuesta de intercambio gaseoso, metabolismo de carbono y capacidad antioxidante frente a un evento de ola de calor.

Las plantas expuestas a Bajo R:FR presentaron menores tasas de transpiración, conductancia estomática y fotosíntesis neta durante la ola de calor, mientras que las plantas tratadas con Alto R:FR conservaron un mejor desempeño fotosintético (Fig. 7). Este patrón indica que el bajo R:FR dejó a las plantas en una condición menos favorable para enfrentar el aumento de temperatura. Frente al estrés por altas temperaturas, la transpiración cumple un papel central en el enfriamiento foliar, por ello una disminución de la conductancia estomática restringe el ingreso de CO_2 y disminuye la capacidad de disipar calor (Ostria-Gallardo *et al.* 2023). En consecuencia, la reducción simultánea de conductancia estomática, transpiración y fotosíntesis en el tratamiento bajo R:FR sugiere una menor capacidad para sostener el funcionamiento fisiológico durante la ola de calor (Janda *et al.* 2021; Marchin *et al.* 2022).

Esta respuesta se relaciona a lo encontrado respecto al uso del carbono (Fig. 8a). En específico, las plantas bajo exposición Bajo R:FR en ambiente presentaron una menor concentración de azúcares solubles respecto al tratamiento Control, lo que indica que la calidad de luz afectó al metabolismo del carbono antes de la ola de calor. Este resultado es relevante porque los azúcares solubles representan carbono disponible y participan en el ajuste osmótico, señalización y protección frente al estrés. Por lo tanto, las plantas sometidas a Bajo R:FR llegaron a la ola de calor con una condición basal limitada. En contraste, el tratamiento Alto R:FR durante la ola de calor mantuvo una mayor capacidad para sostener carbono soluble durante el estrés (Aluko *et al.* 2021; Ferguson *et al.* 2021; Driesen *et al.* 2023).

El patrón observado para el contenido de almidón es coherente con esta interpretación (Fig. 8b). Aunque su respuesta fue explicada principalmente por la temperatura, la tendencia de reducción fue acentuada en Alto R:FR durante la ola de calor. Esto sugiere

que, frente esta condición, parte del almidón pudo haberse movilizado hacia formas solubles. En este marco, Alto R:FR habría favorecido una mayor flexibilidad metabólica frente a la ola de calor, comparado al efecto del tratamiento Bajo R:FR. Así, la caída fotosintética observada en Bajo R:FR no parece ser solo una respuesta rápida al calor, sino la expresión de una condición fisiológica previa menos favorable (Sehgal *et al.* 2018; Ferguson *et al.* 2021).

Estos resultados también sugieren que la modulación previa inducida por la calidad de luz no debería interpretarse automáticamente como una respuesta ventajosa. Las respuestas anticipatorias pueden implicar costos fisiológicos y energéticos asociados a la reasignación de recursos hacia funciones de reajuste o defensa, restringiendo potencialmente su disponibilidad para otros procesos como crecimiento, mantenimiento o reproducción (Herms & Mattson 1992; Züst & Agrawal 2017). Así, anticiparse solo sería beneficioso cuando la señal previa es suficientemente confiable y cuando la respuesta inducida mejora efectivamente el desempeño frente al evento posterior. De lo contrario, la activación temprana de ciertos cambios fisiológicos podría resultar neutra o incluso desfavorable, especialmente si se compromete el estado basal con el que la planta enfrenta el estrés subsecuente (Mitchell *et al.* 2009; Mertens *et al.* 2021; Aphalo & Sadras 2022).

En esta línea de pensamiento, los resultados obtenidos sugieren que la señal de Bajo R:FR no promovió un estado preventivo eficaz frente a la ola de calor, sino más bien una condición basal que restringió la capacidad de sostener el intercambio gaseoso y disponibilidad de carbono durante las altas temperaturas. En cambio, Alto R:FR parece haber favorecido un estado fisiológico más compatible con la mantención del desempeño fotosintético y con una mayor flexibilidad en el uso de reservas. Con base en este criterio, la posible modulación anticipada por señales lumínicas debe evaluarse no solo en términos mecanísticos, sino también considerando sus costos potenciales, las condiciones ecológicas y la flexibilidad de las plantas bajo las cuales dicha modulación podría resultar biológicamente ventajosa.

La capacidad antioxidante total refuerza esta lectura (Fig. 9d). Aunque las enzimas antioxidantes individuales no mostraron patrones estadísticamente, la capacidad antioxidante total respondió fuertemente al factor luz y a la interacción Luz x Temperatura. Esto indica que la calidad de la luz previa modificó el estado redox global de las plantas, aun cuando ese efecto no se reflejara de manera consistente en cada enzima por separado. En este contexto, la capacidad antioxidante total resulta más informativa que una enzima aislada para interpretar la respuesta defensiva general, ya que integra la contribución conjunta de sistemas enzimáticos y de metabolitos antioxidantes no enzimáticos inducidos, como compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, tocoferoles, ascorbato y glutatión, los cuales participan activamente en la amortiguación del desbalance redox y en la remoción de especies reactivas de oxígeno (Głuchowska *et al.* 2025; Nikolić *et al.* 2025). Así, el tratamiento Alto R:FR mostró una mayor capacidad de sostener defensa antioxidante, mientras que Bajo R:FR presentó valores menores, coherente con una menor capacidad para amortiguar el estrés oxidativo asociado al calor (Borbély *et al.* 2022; Kreslavski *et al.* 2023; Haider *et al.* 2026) y asimismo, esto tiene coherencia con la literatura que indica que señales mediadas por la razón R:FR modula la acumulación de estos metabolitos antioxidantes no enzimáticos, aunque la magnitud y dirección de la acumulación varía entre especies, y, según la intensidad y duración del tratamiento lumínico (Pashkovskiy *et al.* 2026).

La temperatura afectó significativamente el contenido de clorofila *a* y clorofila *b*, lo que indica que el sistema pigmentario respondió principalmente al evento de ola de calor (Fig. 5). En cambio, la calidad de luz no modificó de forma significativa las concentraciones absolutas de estos pigmentos. Sin embargo, la luz y la temperatura si influyeron sobre la relación ChlTotal/Carotenoides, lo que sugiere una modulación del balance entre pigmentos de captación y de fotoprotección, más que una reorganización general del pool pigmentario. Dado que los carotenoides cumplen funciones tanto en transferencia de energía como en fotoprotección y control del daño fotooxidativo y considerando los niveles no estresantes de la intensidad de luz (Tabla 2), este resultado puede interpretarse como un reajuste limitado de la organización del aparato fotosintético frente al calor y no

como una evidencia de anticipación inducida por la señal lumínica previa (Kreslavski *et al.* 2023; Van Brenk *et al.* 2024; Khan *et al.* 2025).

El contenido de antocianinas (Fig. 6) mostró una acumulación asociado a mecanismos protectores frente al calor. Tanto luz como la temperatura afectaron el contenido total de pigmentos rojos, aunque el efecto más fuerte correspondió a la temperatura, lo que sugiere que la acumulación de antocianinas formó parte de una respuesta general al estrés térmico. Aun así, el efecto del factor luz sobre los pigmentos rojos totales indica que el entorno lumínico previo también contribuyó a modular esta respuesta (Janda *et al.* 2021; Khan *et al.* 2025).

Estos resultados (Fig. 7,8,9) permiten sugerir que la calidad de la luz previa a un evento de ola de calor indujo un estado fisiológico preventivo. Ese estado previo definió la disponibilidad de carbono soluble, la capacidad antioxidante. Esas diferencias se expresaron durante la ola de calor en el intercambio gaseoso. Bajo R:FR, las plantas enfrentaron el calor con menor disponibilidad de azúcares solubles, menor capacidad antioxidante total y una respuesta más limitada en transpiración y conductancia estomática. En cambio, Alto R:FR favoreció un estado más robusto, caracterizado por una mejor conversión de azúcares solubles, mayor capacidad antioxidante total y en un mejor desempeño fotosintético (Junior *et al.* 2021; Ferguson *et al.* 2021; Janda *et al.* 2021; Sharma *et al.* 2025).

Sin embargo, como plantean Verslues et al. (2023) la señal no afecta de manera uniforme al organismo, sino que modula procesos específicos según su duración e intensidad. En este diseño experimental, la respuesta del componente pigmentario (Fig. 5,6) a la señal lumínica fue limitada, lo que sugiere que este no constituyó uno de los principales ejes de modulación fisiológica.

Respuesta reproductiva

Los resultados indican que la señal lumínica y la ola de calor modificaron principalmente parámetros alométricos de las panojas y el tamaño de las estructuras reproductivas, más que la fracción de biomasa destinada a semillas. Este punto es importante porque muestra que la modulación fisiológica descrita previamente sí tuvo consecuencias reproductivas, pero estas no se expresaron como un cambio general en la eficiencia de asignación a semillas, sino como cambios en la forma en que se construyó la estructura reproductiva y en cómo esa estructura condicionó la producción final (Zenda *et al.* 2022; Resentini *et al.* 2023).

En panojas apicales, la interacción entre luz y temperatura afectó la longitud, diámetro y el índice de esbeltez (Fig. 10), y el tratamiento Control Ola fue el único que mostró una reducción significativa en peso de panoja y peso de semillas (Tabla 3). En contraste, los tratamientos con R:FR mantuvieron valores cercanos al ambiente, lo que sugiere que la señal lumínica previa disminuyó el efecto negativo de la ola calor sobre la producción apical. Sin embargo, el modelo de asignación (Fig. 11) mostró que, al controlar por el tamaño total de la estructura reproductiva, no hubo efectos de luz, temperatura ni tipo de panoja sobre la biomasa destinada a semillas. Esto indica que los tratamientos no alteraron la relación básica entre el tamaño reproductivo y producción de semillas, sino el tamaño mismo de la estructura. En otras palabras, el efecto del tratamiento lumínico actuó principalmente sobre la construcción de panoja, y desde ahí, sobre el rendimiento (Mohapatra & Sahu 2021; Ferguson *et al.* 2021).

La diferencia entre panojas apicales y axilares refuerza esta interpretación. En las apicales, la producción de semillas dependió de la longitud del raquis, mientras que en las axilares dependió del peso total de la panoja (Fig. 12). Por lo tanto, los dos tipos de panoja no respondieron de manera similar. El rendimiento en las panojas apicales estuvo asociadas a un componente arquitectónico lineal, mientras que en las panojas axilares dependió del tamaño estructural acumulado. Esto explica por qué la respuesta a los tratamientos no fue uniforme entre posiciones reproductivas y sugiere que la jerarquía de

la estructura reproductiva dentro de la planta modula la traducción de los cambios fisiológicos en producción de semillas (Mohapatra & Sahu 2021; Resentini *et al.* 2023).
Los resultados de germinación (Tabla 4 y Fig. 13) muestran que los efectos relativos del tratamiento no terminaron en la planta madre, sino que se extendieron a la calidad fisiológica de la descendencia. En semillas apicales, el tratamiento Bajo R:FR expuesto a la ola de calor aumentó el tiempo medio de germinación y redujo el éxito final, mientras que Alto R:FR en la misma condición mantuvo o incluso mejoró algunos parámetros respecto al Control. Este patrón sugeriría un efecto materno en respuesta al ambiente que sería traspasado a la semilla. Los datos indican que la señal lumínica modificó el estado fisiológico basal con el que las plantas enfrentaron la ola de calor, y que esa modulación se expresó en la respuesta inmediata de la planta madre, teniendo un efecto en la formación de las panojas, la producción de semillas y atributos de germinación (Begcy *et al.* 2018; Fernández-Pascual *et al.* 2019; Brunel-Muguet *et al.* 2025).

Alcance de la interpretación y límites del diseño experimental

La interpretación de estos resultados debe situarse dentro del alcance real del diseño experimental. El estudio muestra que la calidad de la luz condicionó la respuesta de *A. cruentus* frente a la ola de calor, pero respecto a los procesos evaluados, no puede atribuirse ese efecto a un mecanismo detallado, ni establecer con certeza toda la secuencia causal entre percepción lumínica, reajuste fisiológico y tolerancia térmica. En este sentido, el principal aporte del trabajo es demostrar que distintas razones de R:FR previo indujo un efecto fisiológico que modificó la posterior respuesta a la ola de calor.
Una fortaleza importante del diseño fue el uso de una señal lumínica breve previa al evento de alta temperatura, lo que permitió evaluar la luz como una condición anticipatoria y no solo como un factor crónico de crecimiento. Sin embargo, esa misma característica limita la interpretación. Dado que el tratamiento lumínico duró solo dos días, no es posible distinguir con certeza si los efectos observados durante la ola de calor reflejan una modificación transitoria del estado fisiológico, una persistencia regulatoria

de corta duración o una forma más estable de memoria fisiológica. Por ello, los resultados deben interpretarse como evidencia de modulación previa al estrés, pero no como prueba de una reprogramación sostenida.

Esta limitación convierte la dimensión temporal de la respuesta en un punto fundamental de interpretación. Como la señal lumínica finalizó antes del inicio de la ola de calor, las diferencias observadas durante la ola de calor corresponden al efecto de una condición previa y no a una acción simultánea de luz y temperatura. Esto sugiere que la duración del tratamiento y el momento en que fue percibido pudieron ser tan importantes como su composición espectral. En este contexto, es plausible que parte de la persistencia del efecto haya dependido de la integración entre señalización lumínica, temperatura y procesos temporales de regulación fisiológica, incluyendo componentes del reloj circadiano, aunque el presente estudio no tuvo como objetivo demostrar una base circadiana del fenómeno (Favero *et al.* 2021; Janda *et al.* 2021; Li *et al.* 2022; Mujahid *et al.* 2025).

La temporalidad también puede ayudar a interpretar la diferencia observada entre panojas apicales y axilares. Dado que la panoja apical se desarrolla antes que la axilar, ambas estructuras probablemente enfrentaron la señal lumínica y la ola de calor en estados ontogénicos distintos. En consecuencia, la ausencia de una señal uniforme de efecto de luz y temperatura entre ambos tipos de panoja no necesariamente indica ausencia de modulación, sino posibles diferencias en sus ventajas de sensibilidad al ambiente (Mohapatra & Sahu 2021; Zenda *et al.* 2022; Resentini *et al.* 2023).

También es importante evitar una lectura generalizada del efecto de R:FR. Las respuestas a variaciones dependen de la especie, del contexto ambiental, de la duración del tratamiento y de sus interacciones con otras señales, evaluando la correlación ambiental y la historia evolutiva (Pierik & Ballaré 2021; Aphalo & Sadras 2022; Verslues *et al.* 2023; Sellaro *et al.* 2025).

De manera complementaria, durante la cosecha de las panojas se observó cualitativamente una mayor presencia de psocópteros ápteros en panojas del tratamiento Bajo R:FR, patrón que no fue presenciado en Alto R:FR ni en Control. Esta observación

no fue cuantificada ni incorporada al diseño experimental, por lo que no se pueden establecer conclusiones. Sin embargo, resulta interesante como hipótesis exploratoria entre la interacción planta-insecto, ya que psocópteros se alimentan principalmente de hongos superficiales y también pueden ingerir polen, mientras que, en literatura, Bajo R:FR se asocia con reducción de ciertas respuestas defensivas, por lo que no puede descartarse que la mayor presencia observada refleje cambios indirectos en la microbiota o en el estado superficial de las panojas (New 1987; Pierik & Ballaré 2021).

Finalmente, para avanzar en la comprensión de los mecanismos asociados a la modulación de una respuesta anticipada, sería valioso incorporar aproximaciones moleculares, como, por ejemplo, la regulación de la expresión de proteínas de choque térmico y a reguladores transcripcionales, tales como PIF y HY5. Estos componentes participan en la integración entre señales lumínicas y térmicas, por lo que su evaluación permitiría esclarecer mejor los mecanismos que sostuvieron la persistencia del efecto del tratamiento lumínico previo sobre la respuesta al calor (Junior *et al.* 2021; Janda *et al.* 2021; Sharma *et al.* 2025).

CONCLUSIÓN

Las respuestas fisiológicas de *A. cruentus* evidencian un efecto frente a diferentes razones de R:FR como señales con valor predictivo. La señal lumínica tuvo un efecto en parámetros fotosintéticos y defensa antioxidante. Los resultados de esta tesis sugieren que un efecto anticipatorio de la calidad de la luz influye en el rendimiento de procesos fisiológicos y reproductivos frente a una ola de calor. La hipótesis planteada se cumple bajo el diseño experimental de esta tesis. No obstante, la duración y características espectrales de la señal lumínica limitan la generalización de los resultados y requieren evaluación experimental adicional.

GLOSARIO

- **Ajuste fisiológico:** modificación reversible del funcionamiento interno de un organismo en respuesta a cambios ambientales, mediada por regulación metabólica, molecular o bioquímica.
- **Anticipación adaptativa:** rasgo biológico en el que señales ambientales tempranas inducen respuestas que preparan al organismo para condiciones futuras, aumentando su desempeño bajo dichas condiciones (Mitchell *et al.* 2009).
- **Anticipación fisiológica:** ajuste funcional previo a la aparición de un estresor, activado por señales ambientales predictivas y no por daño directo (Karban 2008).
- **Memoria del estrés:** capacidad biológica de modificar respuestas futuras a partir de exposiciones previas a condiciones adversas (Lämke & Bäurle 2017)
- **Ola de calor:** evento climático caracterizado por varios días consecutivos con temperaturas significativamente superiores al promedio histórico local (Perkins-Kirkpatrick & Lewis 2020).
- **Plasticidad fenotípica:** capacidad de un mismo genotipo para producir diferentes fenotipos según el ambiente (Paaby & Testa 2021).
- **Respuesta anticipatoria:** cambio fisiológico inducido antes de la aparición de un estresor, basado en señales ambientales previas al estresor (Karban 2008).
- **Señal predictiva:** estímulo ambiental cuya ocurrencia precede consistentemente a otro evento y permite anticipar su aparición (Mitchell *et al.* 2009)
- **Teoría de asignación de recursos:** marco conceptual que describe como los organismos distribuyen recursos limitados entre funciones biológicas competidoras (Herms & Mattson 1992)
- **Trade-off fisiológico:** relación de compromiso funcional en la que la mejora de un proceso biológico reduce el desempeño de otro (Züst & Agrawal 2017).
- **Valor predictivo ambiental:** grado de confiabilidad con que una señal ambiental anticipa la ocurrencia de una condición ecológica relevante (Mitchell *et al.* 2009).

BIBLIOGRAFÍA

Aiguo, Z., Ruiwen, D., Cheng, W., Cheng, C., Dongmei, W. 2023. Insights into the catalytic and regulatory mechanisms of dihydroflavonol 4-reductase, a key enzyme of anthocyanin synthesis in Zanthoxylum bungeanum. Tree Physiology 43(1): 169-184. https://doi.org/10.1093/treephys/tpac101

Allen, J., Guo, K., Zhang, D., Ince, M., Jammes, F. 2019. ABA-glucose ester hydrolyzing enzyme ATBG1 and PHYB antagonistically regulate stomatal development. PLoS ONE 14(6):. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218605

Aluko, O.O., Li, C., Wang, Q., Liu, H. 2021. Sucrose utilization for improved crop yields: A review article. International Journal of Molecular Sciences Vol. 22. MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms22094704

Anderson, M.J. 2017. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) . In: Wiley StatsRef: Statistics Reference Online: 1-15. Wiley. https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841

Aphalo, P.J., Ballaré, C.L. 1995. On the Importance of Information-Acquiring Systems in Plant-Plant Interactions. Source: Functional Ecology. 5-14 pp.

Aphalo, P.J., Sadras, V.O. 2022. Explaining pre-emptive acclimation by linking information to plant phenotype. Journal of Experimental Botany Vol. 73: 5213-5234. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/jxb/erab537

Aphalo, P.J., Sadras, V.O. 2025. Anticipatory responses to drought by plants: What are the environmental cues?

Ballaré, C.L., Mazza, C.A., Austin, A.T., Pierik, R. 2012. Canopy light and plant health. Plant Physiology 160(1): 145-155. https://doi.org/10.1104/pp.112.200733

Bao, Y., Liu, X., Feng, C.H., Niu, M.X., Liu, C., Wang, H.L., Yin, W., Xia, X. 2024. Light and Light Signals Regulate Growth and Development in Woody Plants. Forests Vol. 15. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/f15030523

Begcy, K., Sandhu, J., Walia, H. 2018. Transient heat stress during early seed development primes germination and seedling establishment in rice. Frontiers in Plant Science 871:. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01768

Borbély, P., Gasperl, A., Pálmai, T., Ahres, M., Asghar, M.A., Galiba, G., Müller, M., Kocsy, G. 2022. Light Intensity-and Spectrum-Dependent Redox Regulation of Plant Metabolism. Antioxidants Vol. 11. MDPI. https://doi.org/10.3390/antiox11071311

Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY. 248-254 pp.

Brunel-Muguet, S., Baránek, M., Fragkostefanakis, S., Sauvage, C., Lieberman-Lazarovich, M., Maury, S., Kaiserli, E., Segal, N., Testillano, P.S., *et al.* 2025. Maternal environmental effects and climate-smart seeds: unlocking epigenetic inheritance for crop innovation in the seed industry. Plant Journal 123(3):. https://doi.org/10.1111/tpj.70407

Bünning, E. 1936. Die endonome Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 54(10): 590-607. https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1937.tb01941.x

Bünning, E. 1960. Circadian Rhythms and the Time Measurement in Photoperiodism. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 25: 249-256. https://doi.org/10.1101/SQB.1960.025.01.026

Cagnola, J.I., Ploschuk, E., Benech-Arnold, T., Finlayson, S.A., Casal, J.J. 2012. Stem transcriptome reveals mechanisms to reduce the energetic cost of shade-avoidance responses in tomato. Plant Physiology 160(2): 1110-1119. https://doi.org/10.1104/pp.112.201921

Casal, J.J. 2013. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. Annual Review of Plant Biology Vol. 64: 403-427. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120221

Cerrudo, I., Keller, M.M., Cargnel, M.D., Demkura, P. V., de Wit, M., Patitucci, M.S., Pierik, R., Pieterse, C.M.J., Ballaré, C.L. 2012. Low red/far-red ratios reduce arabidopsis resistance to Botrytis cinerea and jasmonate responses via a COI1-JAZ10-dependent, salicylic acid-independent mechanism. Plant Physiology 158(4): 2042-2052. https://doi.org/10.1104/pp.112.193359

Chaudhary, K.B., Trivedi, A.P., Macwan, S.J., Barvaliya, P.P. 2025. Effect of Temperature Rise on Crop Growth and Productivity. International Journal of Environment and Climate Change 15(1): 167-177. https://doi.org/10.9734/ijecc/2025/v15i14683

Chiang, C., Olsen, J.E., Basler, D., Bånkestad, D., Hoch, G. 2019. Latitude and weather influences on sun light quality and the relationship to tree growth. Forests 10(8):. https://doi.org/10.3390/f10080610

Courbier, S., Grevink, S., Sluijs, E., Bonhomme, P.O., Kajala, K., Van Wees, S.C.M., Pierik, R. 2020. Far-red light promotes Botrytis cinerea disease development in tomato leaves via jasmonate-dependent modulation of soluble sugars. Plant Cell and Environment 43(11): 2769-2781. https://doi.org/10.1111/pce.13870

De Wit, M., Spoel, S.H., Sanchez-Perez, G.F., Gommers, C.M.M., Pieterse, C.M.J., Voesenek, L.A.C.J., Pierik, R. 2013. Perception of low red: Far-red ratio compromises both salicylic acid- and jasmonic acid-dependent pathogen defences in Arabidopsis. Plant Journal 75(1): 90-103. https://doi.org/10.1111/tpj.12203

Ding, Y., Yang, S. 2022. Surviving and thriving: How plants perceive and respond to temperature stress. Developmental Cell Vol. 57: 947-958. Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.03.010

Driesen, E., Saeys, W., De Proft, M., Lauwers, A., Van den Ende, W. 2023. Far-Red Light Mediated Carbohydrate Concentration Changes in Leaves of Sweet Basil, a Stachyose Translocating Plant. International Journal of Molecular Sciences 24(9):. https://doi.org/10.3390/ijms24098378

Favero, D.S., Lambolez, A., Sugimoto, K. 2021. Molecular pathways regulating elongation of aerial plant organs: a focus on light, the circadian clock, and temperature. Plant Journal 105(2): 392-420. https://doi.org/10.1111/tpj.14996

Ferguson, J.N., Tidy, A.C., Murchie, E.H., Wilson, Z.A. 2021. The potential of resilient carbon dynamics for stabilizing crop reproductive development and productivity during heat stress. Plant Cell and Environment Vol. 44: 2066-2089. Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/pce.14015

Fernández-Pascual, E., Mattana, E., Pritchard, H.W. 2019. Seeds of future past: climate change and the thermal memory of plant reproductive traits. Biological Reviews 94(2): 439-456. https://doi.org/10.1111/brv.12461

Franklin, K.A. 2008. Shade avoidance. New Phytologist Vol. 179: 930-944. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x

Franklin, K.A., Quail, P.H. 2010. Phytochrome functions in Arabidopsis development. Journal of Experimental Botany Vol. 61: 11-24. https://doi.org/10.1093/jxb/erp304

Gan, S.H., Sage, R.F. 2024. Stomatal response to VPD in C4 plants with different biochemical sub-pathways. Plant Cell and Environment 47(9): 3466-3477. https://doi.org/10.1111/pce.14952

Głuchowska, A., Zieniuk, B., Pawełkowicz, M. 2025. Unlocking Plant Resilience: Metabolomic Insights into Abiotic Stress Tolerance in Crops. Metabolites Vol. 15. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/metabo15060384

Goraya, G.K., Kaur, B., Asthir, B., Bala, S., Kaur, G., Farooq, M. 2017. Rapid injuries of high temperature in plants. Journal of Plant Biology Vol. 60: 298-305. Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/s12374-016-0365-0

Goyal, A., Szarzynska, B., Fankhauser, C. 2013. Phototropism: At the crossroads of light-signaling pathways. Trends in Plant Science Vol. 18: 393-401. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.03.002

Gulcin, İ., Alwasel, S.H. 2023. DPPH Radical Scavenging Assay. Processes Vol. 11. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/pr11082248

Haider, F.U., Liu, T., Aguila, L.C.R., Shahzad, B., Habiba, Zhang, P., Li, X. 2026. Harnessing Antioxidants for Abiotic Stress Management: Mechanistic Insights and Prospects for Sustainable Agriculture. Antioxidants 15(3): 337. https://doi.org/10.3390/antiox15030337

Heil, M., Karban, R. 2010. Explaining evolution of plant communication by airborne signals. Trends in Ecology and Evolution 25(3): 137-144. https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.09.010

Herms, D.A., Mattson, W.J. 1992. The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. Source: The Quarterly Review of Biology. 283-335 pp. https://about.jstor.org/terms. Accessed:

Homayounfar, S., Zolfaghari, R., Cavender-Bares, J., Fayyaz, P. 2024. Autumn cold acclimation and freezing tolerance of three oak species in semi-Mediterranean Zagros forests. Forest Systems 33(2):. https://doi.org/10.5424/fs/2024332-20865

Hughes, J., Winkler, A. 2024. New Insight Into Phytochromes: Connecting Structure to Function. Annual Review of Plant Biology 75: 153-183. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-070623

Irving, R., Lanphear, F. 1967. Environmental Control of Cold Hardiness in Woody Plants. Plant Physiol 42: 1191-1196. https://academic.oup.com/plphys/article/42/9/1191/6090972

Janda, T., Prerostová, S., Vanková, R., Darkó, É. 2021. Crosstalk between light- and temperature-mediated processes under cold and heat stress conditions in plants. International Journal of Molecular Sciences Vol. 22. MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms22168602

Janssen, F., Pauly, A., Rombouts, I., Jansens, K.J.A., Deleu, L.J., Delcour, J.A. 2017. Proteins of Amaranth (Amaranthus spp.), Buckwheat (Fagopyrum spp.), and Quinoa (Chenopodium spp.): A Food Science and Technology Perspective. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 16(1): 39-58. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12240

Jeong, S.J., Niu, G., Zhen, S. 2024. Far-red light and temperature interactively regulate plant growth and morphology of lettuce and basil. Environmental and Experimental Botany 218:. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105589

Junior, C.A.S., D'Amico-Damião, V., Carvalho, R.F. 2021. Phytochrome type B family: The abiotic stress responses signaller in plants. Annals of Applied Biology Vol. 178: 135-148. Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/aab.12655

Karakashova, L., Bogdanovska, V., Stojanov, M., Babanovska Milenkovska, F., Velkoska-Markovska, L., Stamatovska, V., Durmishi, N. 2022. TOTAL ANTHOCYANINS IN FRESH FRUIT AND COMPOTE OF "OBLACINSKA"

SOUR CHERRY (PRUNUS CERASUS L.). Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences 76(3): 25-30. https://doi.org/10.55302/jafes22763025k

Karban, R. 2008. Plant behaviour and communication. Ecology Letters Vol. 11: 727-739. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01183.x

Karban, R. 2015. Plant Sensing and Communication. https://www.ebsco.com/terms-of-use. Accessed:

Khan, I., Sohail, Zaman, S., Li, G., Fu, M. 2025. Adaptive responses of plants to light stress: mechanisms of photoprotection and acclimation. A review. Frontiers in Plant Science Vol. 16. Frontiers Media SA. https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1550125

Klose, C., Nagy, F., Schäfer, E. 2020. Thermal Reversion of Plant Phytochromes. Molecular Plant Vol. 13: 386-397. Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.12.004

Kreslavski, V.D., Khudyakova, A.Y., Kosobryukhov, A.A., Balakhnina, T.I., Shirshikova, G.N., Alharby, H.F., Allakhverdiev, S.I. 2023. The Effect of Short-Term Heating on Photosynthetic Activity, Pigment Content, and Pro-/Antioxidant Balance of A. thaliana Phytochrome Mutants. Plants 12(4):. https://doi.org/10.3390/plants12040867

Lämke, J., Bäurle, I. 2017. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. Genome Biology Vol. 18. BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s13059-017-1263-6

Lamothe, L.M., Srichuwong, S., Reuhs, B.L., Hamaker, B.R. 2015. Quinoa (Chenopodium quinoa W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary

fibres high in pectic substances and xyloglucans. Food Chemistry 167: 490-496. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.022

Legris, M., Klose, C., Burgie, S., Rojas, C., Neme, M., Hiltbrunner, A., Wigge, P., Schafer, E., Vierstra, R., *et al.* 2016. Phytocrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. Science 354(6314): 897-900. https://doi.org/10.1126/science.aah5454

Leschevin, M., Ksas, B., Baltenweck, R., Hugueney, P., Caffarri, S., Havaux, M. 2024. Photosystem rearrangements, photosynthetic efficiency, and plant growth in far red-enriched light. Plant Journal 120(6): 2536-2552. https://doi.org/10.1111/tpj.17127

Levine, T.R., Hullett, C.R. 2002. Eta Squared, Partial Eta Squared, and Misreporting of Effect Size in Communication Research. Human Communication Research. 612-625 pp.

Li, G., Zhao, Y. 2024. The critical roles of three sugar-related proteins (HXK, SnRK1, TOR) in regulating plant growth and stress responses. Horticulture Research 11(6):. https://doi.org/10.1093/hr/uhae099

Li, X., Liang, T., Liu, H. 2022. How plants coordinate their development in response to light and temperature signals. Plant Cell Vol. 34: 955-966. American Society of Plant Biologists. https://doi.org/10.1093/plcell/koab302

Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. Methods in Enzymology 148: 348-382

Linschitz, H., Kasches, V., Butler, W.L., Siegelman, H.W. 1966. The Kinetics of Phytochrome Conversion*. THE JuNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRy. 3395-3403 pp.

Marchin, R.M., Backes, D., Ossola, A., Leishman, M.R., Tjoelker, M.G., Ellsworth, D.S. 2022. Extreme heat increases stomatal conductance and drought-induced mortality risk in vulnerable plant species. Global Change Biology 28(3): 1133-1146. https://doi.org/10.1111/gcb.15976

Martínez-Núñez, M., Ruiz-Rivas, M., Vera-Hernández, P.F., Bernal-Muñoz, R., Luna-Suárez, S., Rosas-Cárdenas, F.F. 2019. The phenological growth stages of different amaranth species grown in restricted spaces based in BBCH code. South African Journal of Botany 124: 436-443. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.035

Meng, L., Song, J., Ni, D., Kamaruddin, M.A. 2024. Effects of far-red light on growth, endogenous hormones, antioxidant capacity and quality of Lettuce. Food Production, Processing and Nutrition 6(1):. https://doi.org/10.1186/s43014-023-00210-8

Mertens, D., Boege, K., Kessler, A., Koricheva, J., Thaler, J.S., Whiteman, N.K., Poelman, E.H. 2021. Predictability of Biotic Stress Structures Plant Defence Evolution. Trends in Ecology and Evolution Vol. 36: 444-456. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.12.009

Mitchell, A., Romano, G.H., Groisman, B., Yona, A., Dekel, E., Kupiec, M., Dahan, O., Pilpel, Y. 2009. Adaptive prediction of environmental changes by microorganisms. Nature 460(7252): 220-224. https://doi.org/10.1038/nature08112

Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science 11(1): 15-19. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.11.002

Mohapatra, P.K., Sahu, B.B. 2021. Panicle Architecture of Rice and its Relationship with Grain Filling. Panicle Architecture of Rice and its Relationship with Grain Filling. Springer International Publishing. 1-321 pp. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67897-5

Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A.S., Torres, D., Castanheira, I. 2016. Protein content and amino acids profile of pseudocereals. Food Chemistry 193: 55-61. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.043

Mujahid, M., Ambreen, A., Zarlashat, Y., Sarfraz, Z., Iqbal, Muhammad Sajid, Waheed, A., Iqbal, Muhammad Shahid. 2025. Integration of Light and Circadian Signaling in Plant Gene Regulatory Networks: Implications for Photomorphogenesis and Stress Adaptation. Biology Vol. 14. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/biology14101375

New, T.R. 1987. Biology of the Psocoptera. Oriental Insects 21(1): 1-109. https://doi.org/10.1080/00305316.1987.11835472

Nikolić, B.R., Đurović, S., Pisinov, B., Jovanović, V., Šikuljak, D. 2025. Chlorophylls and Polyphenols: Non-Enzymatic Regulation of the Production and Removal of Reactive Oxygen Species, as a Way of Regulating Abiotic Stress in Plants. International Journal of Molecular Sciences Vol. 26. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/ijms26189039

Norouzian, R., Plonsky, L. 2017. Eta- and partial eta-squared in L2 research: A cautionary review and guide to more appropriate usage. Second Language Research Vol. 34: 257-271. SAGE Publications Ltd. https://doi.org/10.1177/0267658316684904

Novoplansky, A. 2015. Future perception in plants. In: Anticipation Across Disciplines Vol. 29: 57-70. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22599-9_5

Oleti, A., Dar, A., Shrestha, Sanju, Ojha, G., Tseng, T.M., Shrestha, Swati. 2024. Effect of Elevated Temperature on Growth Parameters and Seed Set of Setaria pumila (Yellow Foxtail) and Amaranthus palmeri (Palmer amaranth) in Southern USA. Agronomy 14(9):. https://doi.org/10.3390/agronomy14092025

Ostria-Gallardo, E., Zúñiga-Contreras, E., Carvajal, D.E., de La Peña, T.C., Gianoli, E., Bascuñán-Godoy, L. 2023. Two Congeneric Shrubs from the Atacama Desert Show Different Physiological Strategies That Improve Water Use Efficiency under a Simulated Heat Wave. Plants 12(13):. https://doi.org/10.3390/plants12132464

Paaby, A.B., Testa, N.D. 2021. Developmental Plasticity and Evolution. In: Evolutionary Developmental Biology: A Reference Guide: 1073-1086. Springer Science+Business Media. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32979-6_110

Paethaisong, W., Suksawat, M., Jirahiranpat, A., Phetcharaburanin, J., Wannapat, S., Theerakulpisut, P., Dongsansuk, A. 2025. Short-Term High Temperature Alters psbA Gene Expression and D1 Protein Related Photosystem II Function in Rice Seedlings. Journal of Agronomy and Crop Science 211(2):. https://doi.org/10.1111/jac.70043

Palma, F., López-Gómez, M., Tejera, N.A., Lluch, C. 2014. Involvement of abscisic acid in the response of Medicago sativa plants in symbiosis with Sinorhizobium meliloti to salinity. Plant Science 223: 16-24. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.02.005

Pashkovskiy, P., Khudyakova, A., Ashikhmin, A., Frolov, A., Vereshchagin, M., Basnet, A., Abramova, A., Starodubov, A., Allakhverdiev, S.I., *et al.* 2026. Phytochrome-dependent photosynthetic and antioxidant responses of tomato under shaded conditions induced by red/far-red light ratios. Plant Science 367:. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2026.113090

Perkins-Kirkpatrick, S.E., Lewis, S.C. 2020. Increasing trends in regional heatwaves. Nature Communications 11(1):. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16970-7

Pierik, R., Ballaré, C.L. 2021. Control of Plant Growth and Defense by Photoreceptors: From Mechanisms to Opportunities in Agriculture. Molecular Plant Vol. 14: 61-76. Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.11.021

Pittendrigh, C.S. 1960. Circadian Rhythms and the Circadian Organization of Living Systems. Cold Spring Harbor Symposia 25: 159-184

Pustejovsky, J.E., Tipton, E. 2018. Small-Sample Methods for Cluster-Robust Variance Estimation and Hypothesis Testing in Fixed Effects Models. Journal of Business and Economic Statistics 36(4): 672-683. https://doi.org/10.1080/07350015.2016.1247004

Qiu, Y., Li, M., Kim, R.J.A., Moore, C.M., Chen, M. 2019. Daytime temperature is sensed by phytochrome B in Arabidopsis through a transcriptional activator HEMERA. Nature Communications 10(1):. https://doi.org/10.1038/s41467-018-08059-z

Rahman, M.A., Lee, S.H., Park, H.S., Min, C.W., Woo, J.H., Choi, B.R., Rahman, M.M., Lee, K.W. 2025. Light Quality Plays a Crucial Role in Regulating Germination, Photosynthetic Efficiency, Plant Development, Reactive Oxygen Species Production, Antioxidant Enzyme Activity, and Nutrient Acquisition in Alfalfa. International Journal of Molecular Sciences 26(1):. https://doi.org/10.3390/ijms26010360

Raiyemo, D.A., Bobadilla, L.K., Tranel, P.J. 2023. Genomic profiling of dioecious Amaranthus species provides novel insights into species relatedness and sex genes. BMC Biology 21(1):. https://doi.org/10.1186/s12915-023-01539-9

Ramakrishnan, M., Zhang, Z., Mullasseri, S., Kalendar, R., Ahmad, Z., Sharma, A., Liu, G., Zhou, M., Wei, Q. 2022. Epigenetic stress memory: A new approach to study cold and heat stress responses in plants. Frontiers in Plant Science Vol. 13. Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1075279

Ranal, M., Santana, D. 2006. How and why to measure the germination process? Revista Brasil 29(1): 1-11

Resentini, F., Orozco-Arroyo, G., Cucinotta, M., Mendes, M.A. 2023. The impact of heat stress in plant reproduction. Frontiers in Plant Science Vol. 14. Frontiers Media SA. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1271644

Sato, H., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2024. Complex plant responses to drought and heat stress under climate change. Plant Journal Vol. 117: 1873-1892. John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1111/tpj.16612

Scafaro, A.P., Fan, Y., Posch, B.C., Garcia, A., Coast, O., Atkin, O.K. 2021. Responses of leaf respiration to heatwaves. Plant Cell and Environment Vol. 44: 2090-2101. Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/pce.14018

Scafaro, A.P., Posch, B.C., Evans, J.R., Farquhar, G.D., Atkin, O.K. 2023. Rubisco deactivation and chloroplast electron transport rates co-limit photosynthesis above optimal leaf temperature in terrestrial plants. Nature Communications 14(1):. https://doi.org/10.1038/s41467-023-38496-4

Sehgal, A., Sita, K., Siddique, K.H.M., Kumar, R., Bhogireddy, S., Varshney, R.K., HanumanthaRao, B., Nair, R.M., Prasad, P.V.V., *et al.* 2018. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: Impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. Frontiers in Plant Science Vol. 871. Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01705

Sellaro, R., Durand, M., Aphalo, P.J., Casal, J.J. 2025. Making the most of canopy light: shade avoidance under a fluctuating spectrum and irradiance. Journal of Experimental Botany Vol. 76: 712-729. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/jxb/erae334

Seth, P., Sebastian, J. 2024. Plants and global warming: challenges and strategies for a warming world. Plant Cell Reports Vol. 43. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1007/s00299-023-03083-w

Sharma, A., Samtani, H., Laxmi, A. 2025. Molecular dialogue between light and temperature signalling in plants: from perception to thermotolerance. Journal of

Experimental Botany Vol. 76: 677-694. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/jxb/erae356

Shibuya, T., Kishigami, S., Endo, R., Matsuda, R. 2019. Interaction between red to far-red ratio of light and vapor-pressure deficit on extension growth of cucumber seedlings. Scientia Horticulturae 248: 98-104. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.12.049

Shoaib, N., Pan, K., Mughal, N., Raza, A., Liu, L., Zhang, J., Wu, X., Sun, X., Zhang, L., *et al.* 2024. Potential of UV-B radiation in drought stress resilience: A multidimensional approach to plant adaptation and future implications. Plant Cell and Environment Vol. 47: 387-407. John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1111/pce.14774

Smith, A.M., Zeeman, S.C. 2006. Quantification of starch in plant tissues. Nature Protocols 1(3): 1342-1345. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.232

Sng, B.J.R., Van Vu, K., Choi, I.K.Y., Chin, H.J., Jang, I.C. 2023. LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1 mediates a trade-off between growth and defence under shade in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 74(12): 3560-3578. https://doi.org/10.1093/jxb/erad088

Stillman, J.H. 2019. Heat waves, the new normal: Summertime temperature extremes will impact animals, ecosystems, and human communities. Physiology Vol. 34: 86-100. American Physiological Society. https://doi.org/10.1152/physiol.00040.2018

Suellen, J., Teixeira1, S., Beatriz, K., Teixeira, S., Diego, G., Albuquerque, P., Gonçalves Palheta, J., Jhulia Palheta De Sousa, D., Castro De Souza, L., *et al.* 2024. Edição:

Ciências Agrárias e Meio Ambiente Selênio na fisiologia de plantas de milho submetidas ao es-tresse por cádmio. www.rbca.unir.br. Accessed:

Sugita, K. 2024. Mechanism of How Plants Survive Freezing Temperatures in Winter; The Effects of Freezing and Light on Cold Acclimated Plants. Morioka.

Thapa, R., Blair, M.W. 2018. Morphological assessment of cultivated and wild amaranth species diversity. Agronomy 8(11):. https://doi.org/10.3390/agronomy8110272

Van Brenk, J.B., Courbier, S., Kleijweg, C.L., Verdonk, J.C., Marcelis, L.F.M. 2024. Paradise by the far-red light: Far-red and red:blue ratios independently affect yield, pigments, and carbohydrate production in lettuce, Lactuca sativa. Frontiers in Plant Science 15:. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1383100

Vázquez, C. 1992. La fisiología ecológica de plantas

Verslues, P.E., Bailey-Serres, J., Brodersen, C., Buckley, T.N., Conti, L., Christmann, A., Dinneny, J.D.S.R., Grill, E., Hayes, S., *et al.* 2023. Burning questions for a warming and changing world: 15 unknowns in plant abiotic stress. Plant Cell Vol. 35: 67-108. American Society of Plant Biologists. https://doi.org/10.1093/plcell/koac263

Vieira, M. 2025. UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA Plant Molecular and Cellular Biology Joint Research Institute (IBMCP) Evolution of temperature sensing by phytochromes in plants. Plant Molecular and Cellular Biotechnology. Valencia.

Wang, Y., Bian, Z., Pan, T., Cao, K., Zou, Z. 2021a. Improvement of tomato salt tolerance by the regulation of photosynthetic performance and antioxidant enzyme capacity under a low red to far-red light ratio. Plant Physiology and Biochemistry 167: 806-815. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.09.008

Wang, Y., Bian, Z., Pan, T., Cao, K., Zou, Z. 2021b. Improvement of tomato salt tolerance by the regulation of photosynthetic performance and antioxidant enzyme capacity under a low red to far-red light ratio. Plant Physiology and Biochemistry 167: 806-815. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.09.008

Weraduwage, S.M., Frame, M.K., Sharkey, T.D. 2022. Role of guard cell- or mesophyll cell-localized phytochromes in stomatal responses to blue, red, and far-red light. Planta 256(3):. https://doi.org/10.1007/s00425-022-03967-3

Wilczek, A., Judith L. Roe, Mary C. Knapp, Martha D. Cooper, Cristina Lopez-Gallego, Laura J. Martin, Christopher D. Muir, Sheina Sim, Alexis Walker, *et al.* 2009. Effects of genetic pertubation on seasonal life history plasticity. Science 323: 930-934. https://doi.org/10.1126/science.1166788

Yang, J., Li, C., Kong, D., Guo, F., Wei, H. 2020. Light-Mediated Signaling and Metabolic Changes Coordinate Stomatal Opening and Closure. Frontiers in Plant Science Vol. 11. Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.601478

Yemm, E.W., Willis, A.J. 1954. The estimation of carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. Advane. Enzymol. 1, 99. Lipmann, F 57: 508-514

Zenda, T., Wang, N., Dong, A., Zhou, Y., Duan, H. 2022. Reproductive-Stage Heat Stress in Cereals: Impact, Plant Responses and Strategies for Tolerance Improvement. International Journal of Molecular Sciences Vol. 23. MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms23136929

Zhen, S., van Iersel, M., Bugbee, B. 2021. Why Far-Red Photons Should Be Included in the Definition of Photosynthetic Photons and the Measurement of Horticultural

Fixture Efficacy. Frontiers in Plant Science 12:. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.693445

Zinn, K.E., Tunc-Ozdemir, M., Harper, J.F. 2010. Temperature stress and plant sexual reproduction: Uncovering the weakest links. Journal of Experimental Botany Vol. 61: 1959-1968. https://doi.org/10.1093/jxb/erq053

Züst, T., Agrawal, A. 2017. Trade-offs between plant growth and defense afainst insect herbivory: An emerging mechanistic synthesis 18: 513-528. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916

ANEXO

1. Curvas de calibración

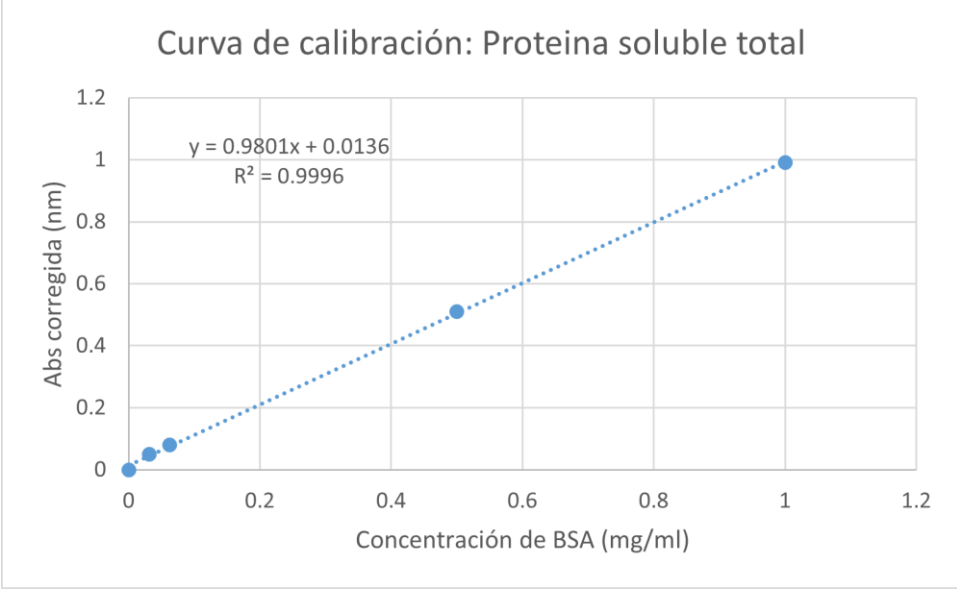

Fig. 15. Curva de calibración proteína soluble total. En el eje x se muestran los puntos definidos de concentración a partir de una dilución seriada, partiendo con 1 mg/mL el más concentrado. Se reporta la ecuación de la recta y R^2.

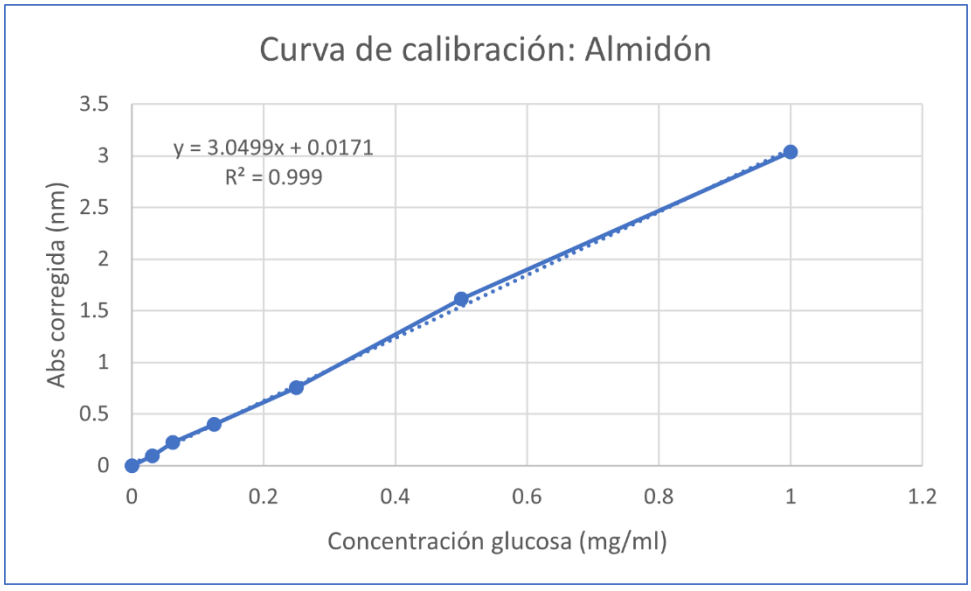

Fig. 16. Curva de calibración almidón. En el eje x se muestran los puntos definidos de concentración a partir de una dilución seriada, partiendo con 1 mg/mL el más concentrado. Se reporta la ecuación de la recta y R^2.

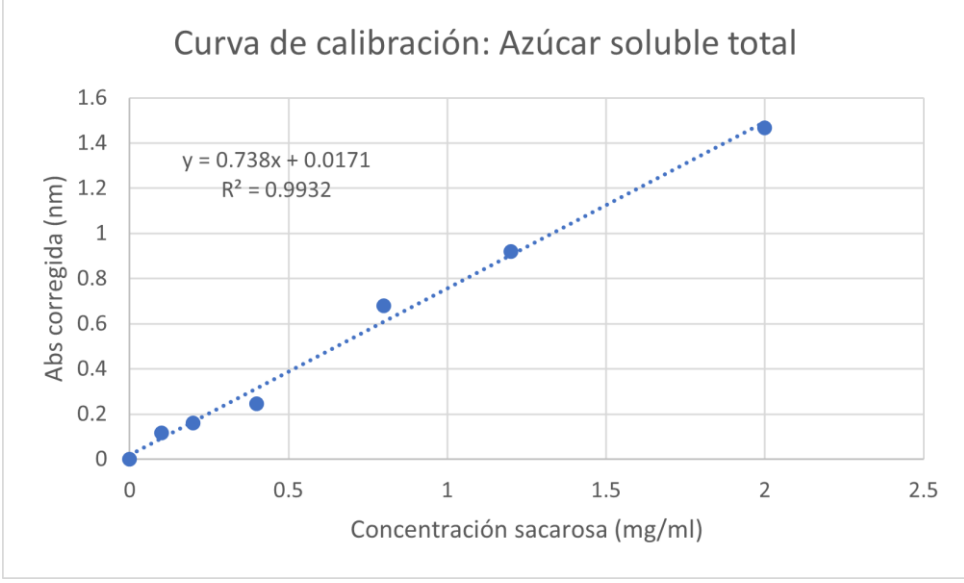

Fig. 17. Curva de calibración azúcar soluble total. En el eje x se muestran los puntos definidos de concentración a partir de una dilución seriada, partiendo con 2 mg/mL el más concentrado. Se reporta la ecuación de la recta y R^2.

2. Modelo de asignación

I. Modelos con interacción: evaluación de homogeneidad de pendientes

$$Y_{ijkl} = \beta_0 + \beta_1 X_{ijkl} + \alpha_i + \gamma_j + \delta_k + (\beta_{2i} X_{ijkl}) + (\beta_{3j} X_{ijkl}) + (\beta_{4k} X_{ijkl}) + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde

Y_{ijkl} es peso de semillas, X_{ijkl} es peso total de la panoja.

β_0 es el intercepto de grupo de referencia, β_1 es la pendiente común.

α_i es efecto de la luz, γ_j es efecto de la temperatura, δ_k es efecto del tipo de panoja.

$\beta_{2i}, \beta_{3j}, \beta_{4k}$ son las interacciones covariables por factor, $\varepsilon_{ijkl} \sim \mathrm{N}(0, \sigma^2)$ es el error.

Tabla 5. Interacción de evaluación de homogeneidad de pendientes. Se evaluó la homogeneidad de pendientes a partir de la inclusión de interacción entre la covariable y los factores fijos. Ninguna de las interacciones resultó significativa, lo que indica que la relación entre peso total y peso de semillas no difiere entre tratamientos ni entre tipos de panoja.

Interacción	gl diff	F	p-valor
Peso total x Luz	2	1.76	0.166
Peso total x Temperatura	1	0.79	0.433
Peso total x Tipo de panoja	1	0.91	0.343

II. Modelo ANCOVA para pendientes homogéneas

$$Y_{ijkl} = \beta_0 + \beta_1 X_{ijkl} + \alpha_i + \gamma_j + \delta_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Se calculó el coeficiente de determinación del modelo lineal (R^2) y el coeficiente de determinación ajustado (R^2 ajustado) como medida de la proporción de la varianza explicada por el modelo, obteniendo R^2 = 0.837 y R^2 ajustad= 0.825

Tabla 6. ANOVA tipo 2 del modelo ANCOVA

Fuente	gl	F	p-valor
Peso total	1	277.95	0.000001
Luz	2	0.225	0.799
Temperatura	1	0.701	0.406
Tipo de panoja	1	0.124	0.726
Residual	55	-	-

La comparación de modelos mostró que la incorporación del factor Tipo de panoja o de interacción no mejora sustancialmente el ajuste.

Tabla 7. Modelos comparados

Modelo	R^2	R^2 *ajustado*	AIC	BIC
Global	0.833	0.830	71.703	75.892
Con Tipo	0.833	0.828	73.572	79.855
Con Interacción	0.836	0.827	74.601	82.979

Tabla 8. Comparaciones de modelos

Modelos comparados	F	p-value
Global vs Con Tipo	0.124	0.726
Tipo vs Con Interacción	0.914	0.343
Global vs Con Interacción	0.519	0.598

III. Diagnóstico de supuestos

Ya que la prueba de normalidad de residuos Shapiro-Wilk resultó en w= 0.931, p = 0.002 y homocedasticidad de Breusch-Pagan en LM = 5.156, p = 0.023, F = 5.453 se evidenció heterocedasticidad, por lo que se robusteció el modelo. La matriz de varianza covarianza (HC3) de los estimadores fue ajustada como:

$$\widehat{Var}_{HC3}(\hat{\beta}) = (X^T X)^{-1} X^T D X (X^T X)^{-1} X^T$$

Donde $D = diag\left(\frac{\hat{\varepsilon}_i^2}{(1-h_{ii})^2}\right)$, h_{ii} son los elementos diagonales de la matriz de proyección.

El ajuste de modelo utilizando errores robustos estándar no alteró las inferencias. principales. De esta manera R^2 = 0.833. Con intercepto β 0.29, error estándar robusto de 0.281, t = 1.03 y p-valor de 0.305. Peso total β con 0.54, error estándar robusto 0.042, t = 13,03 y p valor 0.001.

Obteniendo así el ANCOVA con errores robustos, de esta manera R^2 = 0.837

Tabla 9. ANCOVA valores robustos.

Variable	$\boldsymbol{\beta}$	**Error robusto**	**t**	**p-valor**
Peso total	0.54	0.042	13.12	0.001
Luz (Bajo R:FR)	- 0.09	0.151	- 0.60	0.548
Luz (Control)	- 0.02	0.132	- 0.217	0.829
Temperatura (Ola)	0.09	0.113	0.845	0.402

El modelo reducido ANCOVA es $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$

Con el coeficiente de determinación $R^2 = 1 - \frac{\sum(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sum(Y_i - \bar{Y})^2}$

Tabla 10. Presión de déficit de vapor. Datos obtenidos en la medición de intercambio de gases durante la ola de calor. El déficit de presión de vapor no difirió significativamente entre tratamientos (ANOVA de una vía, F = 3.751, p = 0.0653).

Tratamiento	Media VPD kPa	Desv. Estand
Control	2,49	± 0,18
Bajo R:FR	2,47	± 0,10
Alto R:FR	2,28	± 0,03

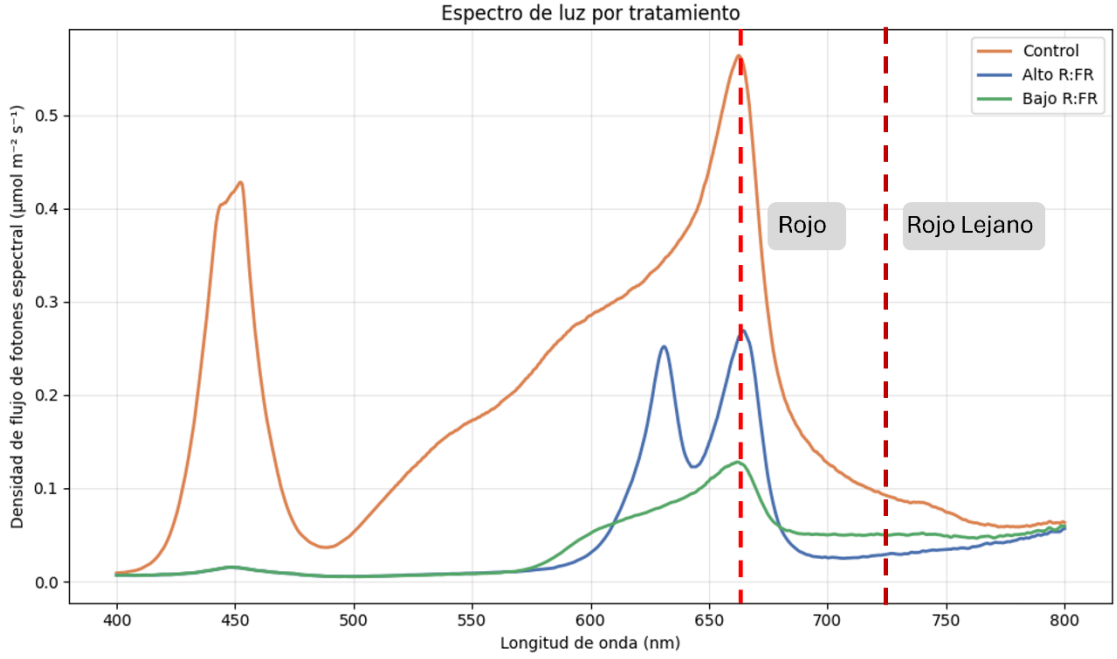

Fig. 18. Gráfico de flujo de fotones espectrales. Se obtuvo los valores de fotones para cada longitud de onda en el rango 400-800 nm, con una resolución espectral de 2 nm y con un intervalo de muestreo de 0.5 nm. Cada una de las 3 mediciones se realizaron en el centro de cada cubículo experimental utilizando el software *SpectraWiz* en una computadora portátil, Medición realizada mediante un espectroradiómetro de fibra óptica EPP2000 UV-VIS (*StellarNet Inc.*, rendija de 50μm) equipado con un sensor *Apogee* con corrección coseno para mediciones hemisféricas incidentes.