

Asimilación fotosintética máxima en variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa*) de diferentes orígenes geográficos y su relación con la morfología foliar

González, Juan A.¹; Graciela I. Ponessa²; Sebastián E. Buedo¹; María I. Mercado²; Fernando E. Prado³

¹ Instituto de Ecología, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán, Argentina.

² Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo.

³ Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Miguel Lillo 205, Tucumán, Argentina. CONICET.

Autor corresponsal: juanantoniogonzalez@gmail.com

► **Resumen** — González, Juan A.; Graciela I. Ponessa; Sebastián E. Buedo; María I. Mercado; Fernando E. Prado. 2014. "Asimilación fotosintética máxima en variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa*) de diferentes orígenes geográficos y su relación con la morfología foliar". *Lilloa* 51 (2). Este trabajo brinda datos sobre las diferentes respuestas fisiológicas y morfológicas de seis variedades de *Chenopodium quinoa* Willd, de diferentes orígenes geográficos, cultivadas bajo las mismas condiciones ambientales. Se analizaron el intercambio de gases (asimilación fotosintética máxima, A_{max} ; conductancia estomática, g_s , transpiración, T_r , concentración interna de CO_2 , C_i y eficiencia intrínseca en el uso del agua EUA_i , anatomía foliar (densidad estomática, DE, tamaño estomático, TE, espesor de los tejidos, ET), área foliar específica, AFE y contenido de pigmentos fotosintéticos y protectores. Las experiencias se realizaron en una región árida del Noroeste Argentino (Amaicha del Valle, 22°31'S, 65°59' W, 1.985 m) bajo condiciones de sequía. Las variedades utilizadas fueron: Kancolla (Perú) y Sayaña (Altiplano Boliviano, 3.850 m), Quinoa Blanca (Cochabamba, Bolivia, 2.570 m), Quinoa Roja (Cangrejillos, Argentina, 3.700 m), CICA (originalmente obtenida en Perú pero ahora cultivada en Argentina a 2.000 m) y CO-407, una variedad de Chile, de zonas bajas (140 m). En general, los datos muestran que g_s es una variable importante en el control de A_{max} pero la magnitud de este control depende de la variedad considerada. El valor más alto de A_{max} fue registrado para la variedad CICA ($31 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y el más bajo para la variedad CO-407 con $19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En relación a la capacidad de carboxilación y EUA_i , los datos obtenidos permiten inferir que las variedades de altura (Sayaña y Kancolla) poseen valores altos de EUA_i y capacidad de carboxilación en relación a las variedades provenientes de media y baja altitud (CO-407 y CICA). El valor de AFE no mostró variaciones de significación entre las variedades estudiadas. Todas resultaron ser anfiestomáticas con DE mayor en la epidermis inferior. Se encontró una correlación lineal positiva entre A_{max} y DE. Los resultados obtenidos aportan datos de valor biológico que pueden ser utilizados para los estudios relacionados al mejoramiento y/o selección varietal en ambientes de media y alta montaña.

Palabras clave: Fotosíntesis, quinoa, tejidos foliares.

► **Abstract** — González, Juan A.; Graciela I. Ponessa; Sebastián E. Buedo; María I. Mercado; Fernando E. Prado. 2014. "Maximum photosynthetic assimilation in quinoa varieties (*Chenopodium quinoa*) from different geographic origins, and its relation to leaf morphology". *Lilloa* 51 (2). Leaf gas exchange (Maxima photosynthetic assimilation, A_{max} ; stomatal conductance, g_s ; leaf transpiration, T_r ; internal CO_2 , and C_i concentration, and anatomical leaf data (stomatal density and size, tissue thickness), specific leaf area (SLA), photosynthetic and protection pigments in six quinoa varieties from different origins were analysed. Trials were carried out in an arid region of Argentina's Northwest (Amaicha del Valle, 22°31'S, 65°59' W, 1,985 m asl) under drought conditions. The varieties used were: Kancolla (Perú) and Sayaña (from Bolivian Altiplano, 3,850 m asl), Quinoa Blanca (from Cochabamba, Bolivia, 2,570 m asl), Quinoa Roja (from Cangrejillos, Argentina, 3,700 m asl), CICA (originally from Perú but currently cultivated at 2,000 m asl in Argentina) and CO-407 a lowland Chil-

ean variety (140 m asl). In general, our data showed that g_s is an important variable in the net CO_2 assimilation (A_{max}) but this control magnitude depends on the considered variety. Highest ($31 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and lowest ($19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) A_{max} values were recorded for CICA and CO-407 varieties. Regarding the carboxylic capacity and intrinsic water use efficiency (iWUE), it may be inferred from the obtained data, that the high altitude varieties (Sayaña and Kancolla) have both, the highest iWUE and carboxylation capacity in relation to other varieties from middle and low altitude (CO-407 and CICA). SLA value did not vary significantly among the studied varieties. Every analysed variety was amphistomatic with higher stomatal density (SD) on the lower epidermis. A positive linear correlation between A_{max} and SD was found. The obtained results provide data of unquestionable biological value, which can be useful to varietal breeding studies in middle and high mountain environments.

Keywords: Leaf tissues, photosynthesis, quinoa.

INTRODUCCIÓN

Chenopodium quinoa Willd, comúnmente llamada «quinoa», es una especie de origen andino que está recibiendo atención mundial por su valor nutritivo relacionado con su composición en aminoácidos esenciales (González *et al.*, 2011). Las propiedades alimenticias de la «quinoa» llevaron a que la Organización de Naciones Unidas (ONU) declare al año 2013 como el «Año Internacional de la Quinoa». En esa declaración se llama la atención sobre las propiedades de la quinoa como un alimento, alternativo y capaz de adaptarse a diversas circunstancias ambientales, particularmente las derivadas del llamado Cambio Global y dentro de éste al denominado Cambio Climático. Existen numerosas investigaciones sobre la «quinoa», referidas en su mayor parte al cultivo, composición química, evaluación de nuevas variedades, entre otras; siendo escasas las relacionadas al intercambio de gases y la actividad fotosintética así como sus interrelaciones con las estructuras anatómicas foliares tales como espesor del mesófilo y densidad estomática, entre otros. Estos estudios son de mucha importancia para los programas de mejoramiento puesto que ayudan a interrelacionar las variables morfológicas (externas e internas), fisiológicas y bioquímicas, pero sobre todo el comportamiento y la productividad a campo de cualquier especie.

En la actualidad se conoce que la «quinoa» es una especie C_3 con alta asimilación fotosintética. Esto quedó demostrado a partir de investigaciones fotosintéticas a campo,

estudios anatómicos foliares y determinaciones de isótopos estables del carbono (relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) (González *et al.*, 2010). La tasa máxima de asimilación fotosintética en «quinoa», varía según la variedad y las condiciones de cultivo. González *et al.* (2010) informaron valores entre 14,8 y $34,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para nueve variedades del altiplano boliviano y una variedad peruana que fueron cultivadas a 1.995 m en un valle de altura de la provincia de Tucumán (Encalilla, Amaicha del Valle). Otros estudios con la variedad Hualhuas (originaria de Perú), en condiciones controladas, informaron tasas máximas de asimilación de hasta $59 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en plantas no estresadas mientras que bajo condiciones de alta salinidad (NaCl 500 mM) dicho valor se reducía a $17 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Eisa *et al.*, 2012). Jacobsen *et al.* (2009) estudiando la variedad INIA Illpa (originaria de Puno, Perú) encontraron que las tasas asimilatorias variaban entre 10 y $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a medida que se incrementaban las condiciones de sequía.

Dado que la «quinoa» tiene una distribución geográfica muy amplia, tanto altitudinal (casi desde el nivel del mar hasta los 4.000 m) como latitudinal (desde Ecuador hasta el Sur de Chile), es posible que tanto las estructuras morfológicas foliares como la función fotosintética asociada varíen en función del ambiente y su plasticidad genética. Debido a que la tasa de asimilación fotosintética máxima en «quinoa» se correlaciona directamente con el rendimiento del grano (González *et al.*, 2010), es necesario investigar como varía la misma en otras variedades, con el fin de identificar las de alta asi-

milación y dilucidar las interrelaciones estructurales y funcionales vinculadas a la actividad fotosintética. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue la identificación de variedades de «quinoa» que resulten apropiadas como un cultivo alternativo en los valles intermontanos del Noroeste de Argentina donde en muchos casos se han priorizado especies exóticas en vez de las autóctonas como es el caso de «quinoa».

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron en la localidad de Amaicha del Valle en el Campo Demostrativo de Encalilla (22°31'S y 65°59'O, 1.995 m, Tucumán, Argentina). Las variedades utilizadas fueron: Kancolla (de Perú) y Sayaña (Altiplano Boliviano, 3.850 m), Quinoa Blanca (Cochabamba, Bolivia, 2.570 m), Quinoa Roja (Cangrejillos, Jujuy, Argentina, 3.700 m), CO-407 (variedad chilena, cultivada a nivel del mar) y CICA que originalmente proviene de Perú, pero en este caso se utilizaron semillas obtenidas de un cultivo realizado en el mismo sitio de Encalilla en años anteriores.

Las semillas fueron sembradas al voleo en el mes de noviembre de 2011. El día anterior a la siembra se procedió a la preparación del terreno regando abundantemente con el fin de asegurar la humedad suficiente para la germinación de las semillas. Para cada variedad se utilizó una parcela de 2 m de largo x 2 m de ancho. Debido a la alta radiación solar y la aridez de la zona, las parcelas se regaron diariamente para evitar la evaporación excesiva del agua retenida en el suelo. Los riegos se efectuaron manualmente en forma de lluvia fina utilizando una regadera, y se mantuvieron hasta la aparición de las primeras plántulas. En el estadio de 6 hojas se procedió al raleo de plantas hasta alcanzar una densidad de 15–20 plantas/m². Luego del raleo la frecuencia de los riegos disminuyó a uno cada 7–10 días hasta el momento de las mediciones fotosintéticas.

Al momento de las mediciones, las plantas alcanzaron una altura aproximada de 80–100 cm, con botón floral visible a sim-

ple vista (79 días a partir de la siembra). Para las mediciones se escogieron las hojas completamente expandidas, orientación norte, de la parte superior del follaje. Los parámetros medidos fueron: asimilación fotosintética máxima (A_{max}), conductancia estomática (g_s), transpiración (T_r), concentración interna de CO₂ (C_i) y eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUAi) calculada como la relación entre la asimilación fotosintética y la conductancia estomática (A_{max}/g_s). Las mismas se efectuaron con un equipo analizador infrarrojo de CO₂ (IRGA, infrared gas analyzer) portátil LICOR (Modelo LI-6400 XT, LiCor Inc. USA). Todas las mediciones se realizaron bajo condiciones de luz y CO₂ saturantes (1.500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ de aire, respectivamente), a temperatura foliar constante (25 \pm 1°C) y en horas de la mañana entre las 9:00 y 11:00 AM. Las mismas hojas utilizadas para las mediciones fotosintéticas se recogieron al final de cada medición para la determinación de los pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) y protectores (absorbentes de UV-B); así como para los estudios anatómicos previa fijación en FAA (formaldehído, alcohol etílico, ácido acético, agua; 10:50:5:35).

Para la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos y protectores de UV-B se usaron discos de 2,89 mm de diámetro obtenidos de la parte media de cada semilamina de las hojas mediante el uso de un sacabocado. Los pigmentos fotosintéticos se extrajeron a partir de 3 discos con 2 ml de dimetil sulfóxido (DMSO) a 45°C en oscuridad según la técnica de Chapelle *et al.* (1992). El contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides se determinó a partir de las lecturas de absorbancia a 649, 665 y 480 nm en un espectrofotómetro UV-visible (U-2800, Hitachi, Japan) usando las ecuaciones de Wellburn (1994). El contenido de pigmentos fotosintéticos se expresó en mg g⁻¹PS (peso seco). Los pigmentos protectores se obtuvieron a partir de 2 discos foliares extraídos con 2 ml de metanol acidulado (metanol, HCl, agua 79:1:20) (Mirecki y Teramura, 1984) y su contenido se expresó como absorbancia a 350 nm por gramo de peso seco

($A_{305} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$). A partir de los discos foliares se determinó el peso seco (PS), el área foliar específica (AFE) expresada por la relación Área foliar/PS, y la masa foliar específica (MFE) dada por la relación $1/\text{AFE}$. Para el PS los discos se secaron en estufa a 84°C durante 24 hs hasta peso constante.

A partir del material fijado en FAA se determinó: densidad estomática (DE), el tamaño de estomas (largo y ancho) e índice estomático (IE). Para ello se realizó la técnica de diafanizado según Dizeo de Strittmater (1973). Se procedió a la observación y conteo de estomas utilizando un microscopio óptico binocular Carl Zeiss Lab. A1 Axiolab con cámara adosada AxioCam ERc 5s Zeiss. La superficie estomática (expresada en μm^2) fue calculada asumiendo que el contorno de las células oclusivas de un estoma es similar al de una elipse. Para cuantificar el espesor de los tejidos foliares se realizaron cortes a mano alzada (D'Ambrogio, 1986) de la región media de la semilámina y teñidos con coloración doble sucesiva azul astra safrani-

na y posteriormente montados en agua glicerinada (1:1, v/v). Las mediciones de los tejidos se realizaron utilizando el programa Axio Vision release 4.8.2. El cálculo del IE se realizó mediante la ecuación sugerida por Wilkinson (1979): $\text{IE} = (\text{NE} * 100) / (\text{CE} + \text{NE})$ donde IE= Índice estomático; NE= Número de estomas por campo de observación; CE= Número de células epidérmicas en el campo de observación.

Mediante el empleo del paquete estadístico Infostat (versión 1.1) los resultados fueron sometidos a un análisis de la varianza ($P=0,05$) y posteriormente se aplicó el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.1. ASIMILACIÓN FOTOSINTÉTICA MÁXIMA (A_{MAX})

Bajo condiciones saturantes de luz y CO_2 las plantas presentan su máxima asimilación fotosintética. De manera que A_{max} es la respuesta asimilatoria en función de la concen-

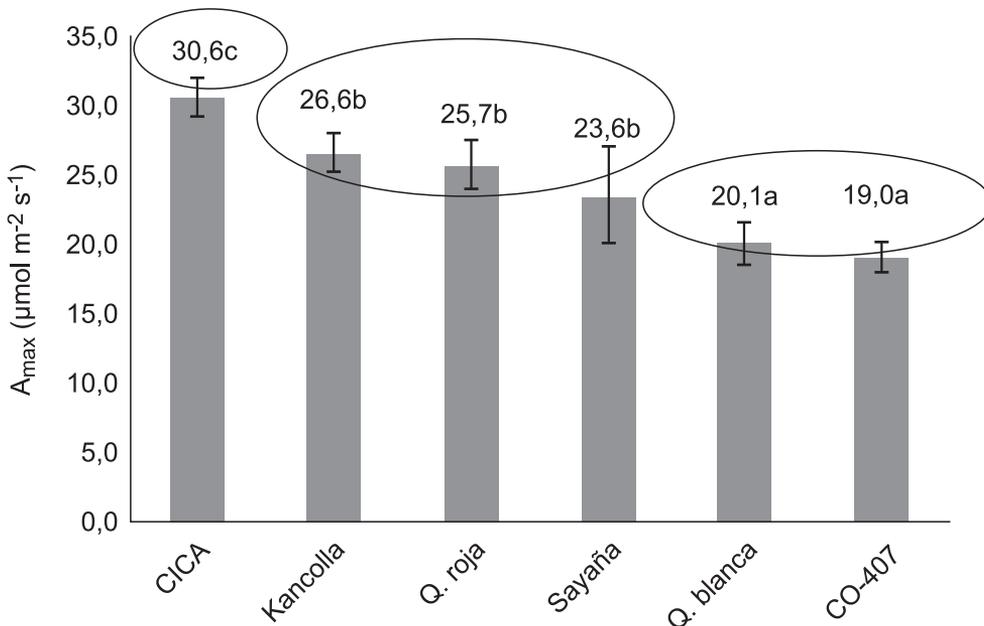


Fig. 1. *Chenopodium quinoa*. Asimilación fotosintética máxima (A_{max}) en distintas variedades de quinoa. Los datos corresponden a la media de 5 plantas con 5 lecturas por planta. Los valores promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellos ($P < 0.05$).

tracción interna de CO_2 (C_i) (Ainsworth *et al.*, 2003). Los datos obtenidos muestran que la A_{max} varía entre un mínimo de $19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para la variedad CO-407 y un máximo de $30,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para la variedad CICA. En general, se observa una tendencia que indicaría que las variedades provenientes de mayor altitud presentan mayor asimilación fotosintética. El análisis estadístico demostró la existencia de tres grupos con diferencias estadísticamente significativas: uno integrado solamente por la variedad CICA, otro conformado por las variedades Kancolla, Quinoa Roja y Sayaña y el tercero formado por las variedades Quinoa Blanca y CO-407 (Fig.1).

Del análisis de dicho agrupamiento surge que CICA sería la variedad mejor adaptada en términos de asimilación fotosintética a las condiciones de Encalilla; mientras que

las menos adaptadas serían CO-407 y Quinoa Blanca. La variedad CICA fue obtenida como una línea de la variedad Amarilla de Marangani (Dr. Angel Mujica Sánchez, com. pers. 2013) y se trata de una variedad de valle interandino con altitudes entre 2.500 y 3.200 m. Por otro lado, CO-407 y Quinoa Blanca provienen una de nivel del mar y otra de un piso altitudinal alrededor de los 2.750 m. Las restantes variedades tienen su origen en sitios de altitudes que oscilan alrededor de los 3.850 m; lo que confirmaría la tendencia señalada anteriormente.

1.2. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA (g_s), CONCENTRACIÓN INTERNA DE CO_2 (C_i) Y TRANSPIRACIÓN (T_r)

Los datos de g_s , C_i y T_r de las variedades estudiadas se resumen en la Tabla 1. Los valores de g_s oscilaron entre $0,081 \text{ mol m}^{-2}$

Tabla 1. *Chenopodium quinoa*. Conductancia estomática (g_s), concentración interna de CO_2 (C_i), transpiración (T_r), capacidad de carboxilación (A_{max}/C_i) y eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUA_i) calculada como A_{max}/g_s .

	g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	T_r ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	A_{max}/C_i ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	EUA_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
Q. Roja	0,219 (0,03)d	185,4 (16,3)b	5,1 (0,5)c	140,8 (11,7)ab	118,8 (12,6)a
Q. Blanca	0,129 (0,01)ab	140,0 (10,2)a	3,1 (0,4)b	144,5 (16,2)ab	156,6 (17,7)a
CICA	0,202 (0,05)cd	180,3 (12,3)ab	6,1 (1,4)c	170,7 (14,0)b	157,3 (13,8)a
CO-407	0,169 (0,04)bc	188,1 (59,6)ab	3,7 (0,9)b	111,4 (14,0)a	119,1 (13,5)a
Kancolla	0,081 (0,01)a	143,9 (26,9)a	1,7 (0,2)a	181,9 (19,0)b	346,9 (13,9)b
Sayaña	0,137 (0,03)ab	142,8 (19,6)b	3,3 (0,3)b	161,2 (22,3)ab	180,3 (14,4)a

Los datos corresponden a la media de 5 plantas distintas con 5 lecturas por planta. El valor entre paréntesis corresponde a la desviación estándar. Los valores promedios seguidos por la misma letra dentro de la misma columna no presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

s^{-1} (Kancolla) y $0,219 \text{ mol m}^{-2} s^{-1}$ (Quinoa Roja). Los datos de C_i muestran dos grupos significativamente diferentes: Quinoa Roja, CICA y CO-407 con valores cercanos a $180 \mu\text{mol mol}^{-1}$, y Quinoa Blanca, Kancolla y Sayaña con valores de C_i próximos a $140 \mu\text{mol mol}^{-1}$. En el caso de la T_r se diferencian tres grupos: CICA y Quinoa Roja; Quinoa Blanca, CO-407 y Sayaña y por último Kancolla. Se debe hacer notar los valores altos de T_r medidos para las variedades CICA y Quinoa Roja (Tabla 1).

1.3. RELACIÓN ENTRE A_{MAX} Y G_s

Se conoce que existe una correlación entre A_{max} y g_s (Wong *et al.*, 1979; Farquhar y Sharkey, 1982) lo que indicaría que la asimilación fotosintética resulta limitada por la fisiología y ocurrencia de los estomas. Dicha relación se manifiesta especialmente bajo condiciones de estrés hídrico (Lawlor, 2001; Galmés *et al.*, 2007; Centritto *et al.*, 2009). En el caso de la «quinoa», González *et al.* (2010) encontraron una correlación positiva significativa entre A_{max} y g_s para diez varie-

dades del altiplano de Bolivia y Perú, cultivadas bajo condiciones de estrés hídrico. Si se analizan en conjunto los datos de todas las variedades utilizadas en este trabajo se observa una correlación curvilínea positiva (Fig.2), que es coincidente con los datos comunicados por autores diversos no sólo para quinoa sino también para otras especies (Galmés *et al.*, 2007; Centritto *et al.*, 2009). Por otra parte, la existencia de correlaciones positivas y significativas entre C_i y g_s indicarían que la apertura/cierre de los estomas (equivalente a la g_s) es el principal factor que controla la entrada de CO_2 en las variedades de quinoa investigadas. Los datos de ambas variables muestran una alta correlación ($r = 0,844$) (Figs.2 y 3).

Sin embargo, si se realiza un análisis individual para cada variedad, las mismas no responden a un patrón único en la relación entre A_{max} y g_s . Las variedades Quinoa Roja, CICA, Kancolla y Sayaña presentan una correlación positiva entre ambas variables; lo que indicaría que en dichas variedades A_{max} , principalmente se halla limitada por g_s

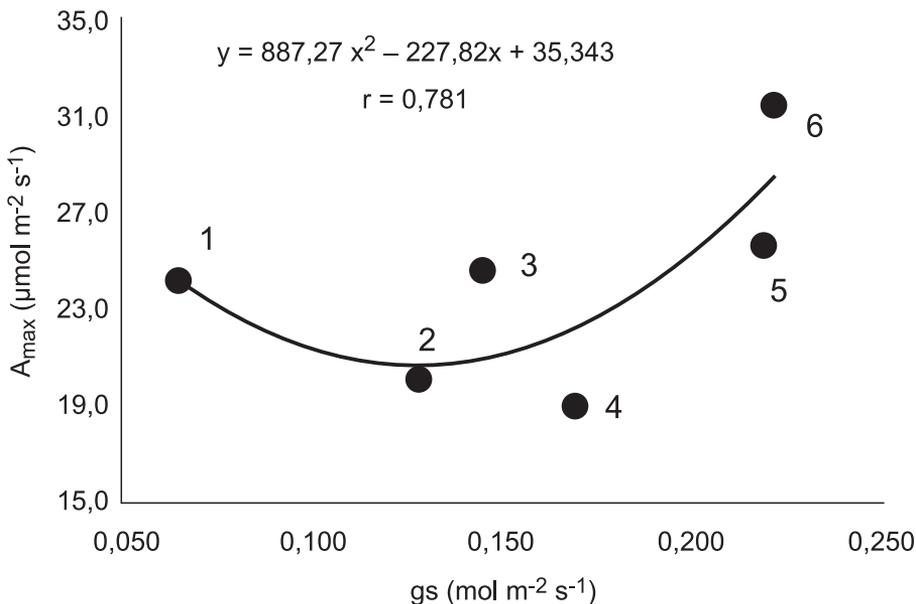


Fig. 2. *Chenopodium quinoa*. Relación entre asimilación fotosintética máxima (A_{max}) y conductancia estomática (g_s) para las variedades: Kancolla (1), Quinoa Blanca (2), Sayaña (3), CO-407 (4), Quinoa Roja (5), CICA (6). Cada punto representa el promedio de 5 plantas distintas con 5 lecturas por planta.

(Figs.4A, C, E, F), en tanto que en las variedades Quinoa Blanca y CO-407 esta correlación no es muy clara.

1.4. RELACIÓN ENTRE TR Y GS

La asimilación de CO_2 y la transpiración se realizan en su mayor parte a través de los estomas. El análisis de los datos obtenidos mostró una alta correlación positiva lineal ($r = 0,941$) entre Tr y gs (Fig.5).

1.5. RELACIÓN ENTRE EUAI Y GS

Algunos autores (Van den Boogaard *et al.*, 1997; Misra *et al.*, 2009) consideran que bajo condiciones limitantes de agua, una variable a considerar es la eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUAi) en relación a la g_s . Los datos obtenidos mostraron una alta correlación positiva ($r = 0,888$) entre ambas variables. Los valores más altos de EUAi corresponden a las variedades Kancolla y Sayaña (Fig.6).

1.6. CAPACIDAD DE CARBOXILACIÓN (AMAX/Ci) Y USO INTRÍNSECO DEL AGUA (EUAi)

La capacidad de carboxilación (Tabla 1), muestra una variación entre $111,4 \text{ (mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$ (mínima) y $181,9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (máxima) para las variedades CO-407 y Kancolla, respectivamente. La diferencia porcentual entre ambas es del 38,8%, indicando que la variedad Kancolla resulta ser la más eficiente en términos de carboxilación es decir, la incorporación del CO_2 a la ribulosa 1,5 difosfato catalizada por la enzima ribulosa 1,5 difosfato carboxilasa/oxigenasa (RUBISCO). Al relacionar la capacidad de carboxilación con la EUAi se observa también que a la variedad Kancolla le corresponde el valor más alto ($346,9 \mu\text{mol mol}^{-1}$), lo que indica que esta variedad es la más eficiente ya que es la que más CO_2 absorbe y la que menos agua pierde en el proceso de la fotosíntesis. Coincidentemente, Kancolla es la variedad que menos transpira (Tabla 1); por lo que sería la más adecuada

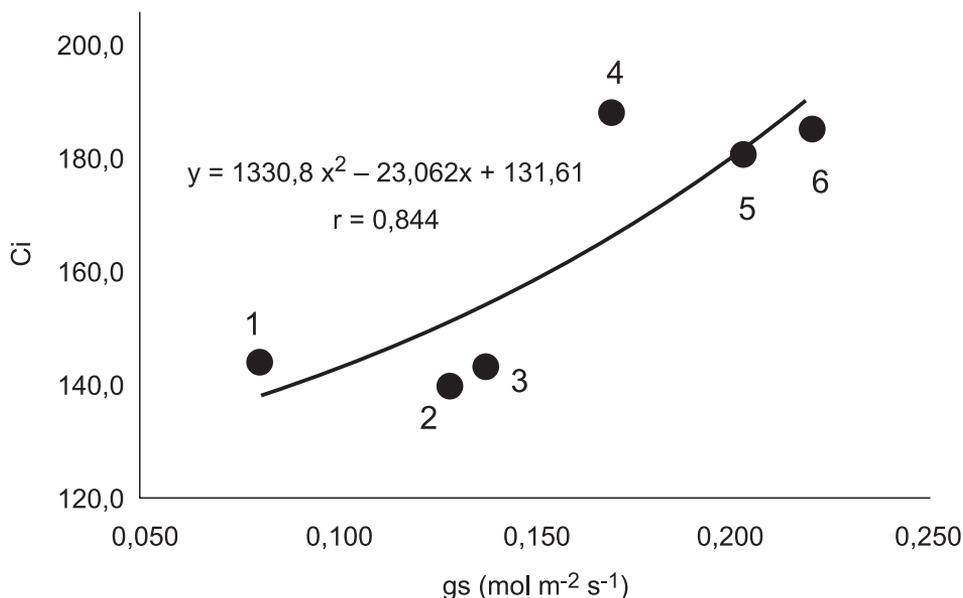


Fig. 3. *Chenopodium quinoa*. Relación entre concentración interna de CO_2 (C_i) y conductancia estomática (g_s) para las variedades: Kancolla (1), Quinoa Blanca (2), Sayaña (3), CO-407 (4), CICA (5) y Quinoa Roja (6). Cada punto representa el promedio de 5 plantas distintas con 5 lecturas por planta.

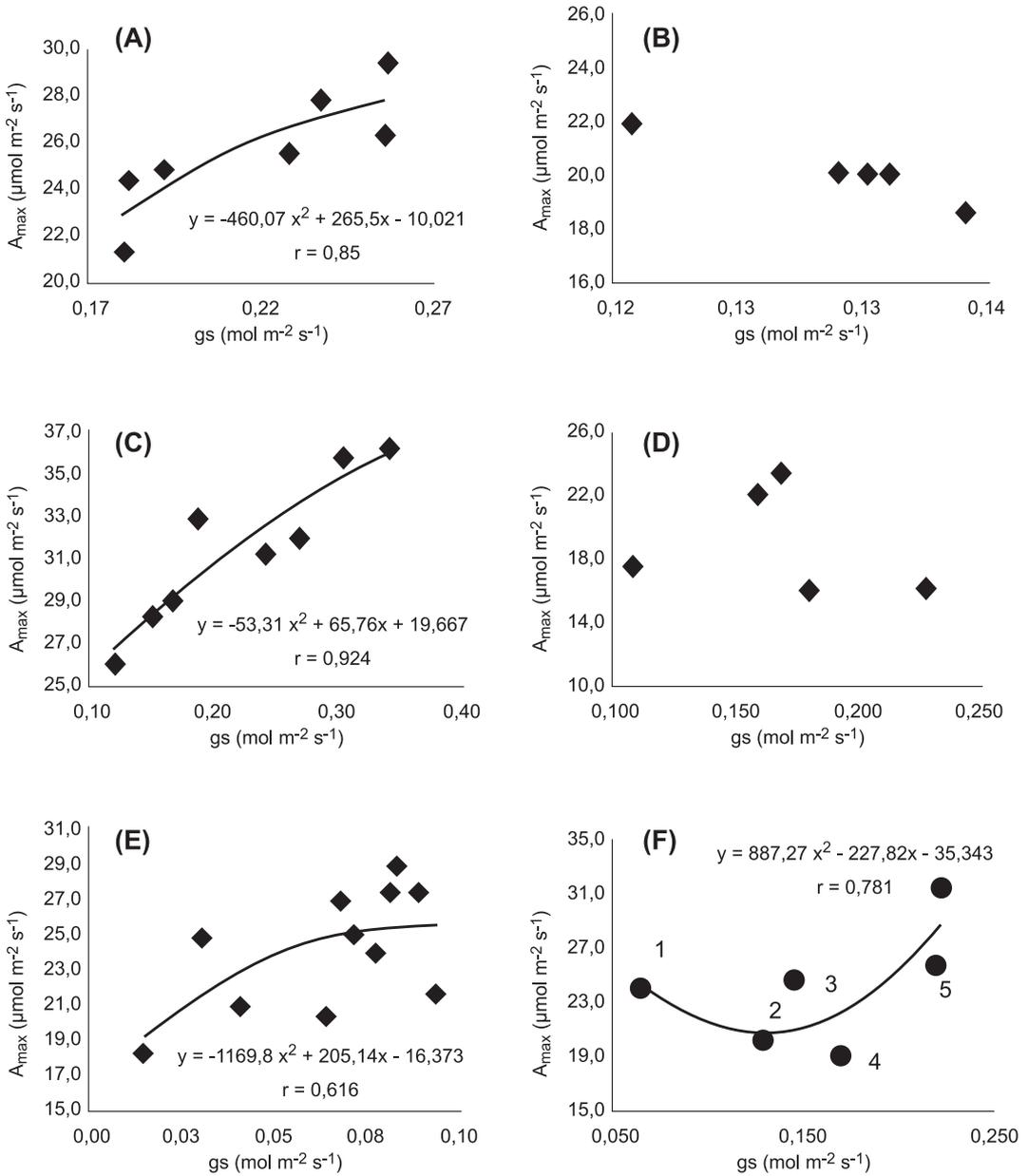


Fig. 4. *Chenopodium quinoa*. Relación entre la asimilación fotosintética máxima (A_{max}) y la conductancia estomática (g_s) en las variedades: Quinoa roja (A), Quinoa blanca (B), CICA (C), CO-407 (D), Kancolla (E) y Sayaña (F). Cada punto representa el promedio de 5 plantas con 5 lecturas por planta.

para cultivar en Encalilla o en sitios similares donde el agua por precipitaciones es baja, condición bastante frecuente en los valles de altura del Noroeste Argentino.

2. RELACIÓN ENTRE LA MORFOLOGÍA FOLIAR Y LAS VARIABLES DEL INTERCAMBIO DE GASES

Toda función fisiológica se sustenta en una determinada estructura anatómica. En

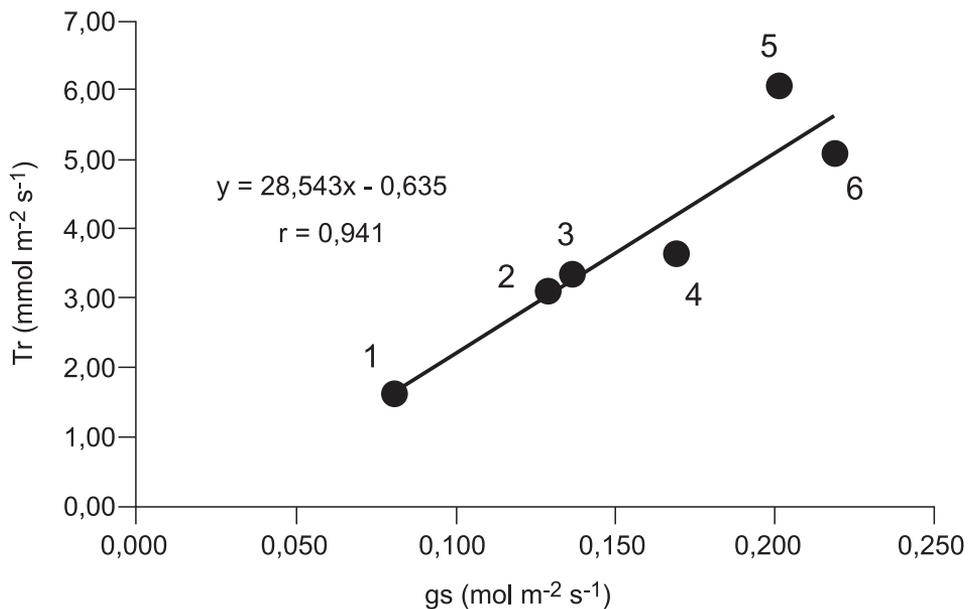


Fig. 5. *Chenopodium quinoa*. Relación entre transpiración (T_r) y la conductancia estomática (g_s) para las variedades: Kancolla (1), Quinoa Blanca (2), Sayaña (3), CO-407 (4), CICA (5) y Quinoa Roja (6). Cada punto representa el promedio de 5 plantas distintas con 5 lecturas por planta.

este sentido, y sobre todo en los estudios eco-fisiológicos, es útil explorar la existencia de posibles correlaciones entre la morfología y la fisiología para aproximarse a una explicación más abarcativa del funcionamiento de las plantas.

En este estudio se consideraron dos variables: a) Área Foliar Específica (AFE) que relaciona la superficie que cubre una determinada masa foliar con su peso; por lo que esta variable también expresa el espesor de los tejidos; b) La inversa del AFE ($1/AFE$) que se relaciona con la inversión en carbono que la planta realiza para lograr una superficie foliar determinada. Ambas variables responden a diferentes condiciones ambientales (sequía, salinidad, bajas temperaturas, excesiva iluminación, presencia de contaminantes, y carencia de nutrientes, entre otros). En ese sentido, la existencia de correlaciones entre estas variables y la asimilación de CO_2 han sido comunicadas para otras especies (Tardieu *et al.*, 1999).

2.1. ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA (AFE)

Los valores de AFE variaron entre $160,7 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ PS (Quinoa Blanca) y $194,1 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ PS (Sayaña) (Fig.7), mientras que los correspondientes valores de $1/AFE$ fueron $5,20 \text{ mg cm}^{-2}$ y $6,24 \text{ mg cm}^{-2}$, respectivamente. El análisis de la varianza, sin embargo, no mostró diferencias significativas entre las distintas variedades. Por lo que podría concluirse que todas tienen un mismo costo en carbono para producir una superficie foliar equivalente. Esto podría estar asociado a que las condiciones de cultivo fueron las mismas para todas las variedades. Liu y Stützel (2004) informaron que para *Amaranthus* sp, bajo condiciones de estrés hídrico, el valor del AFE decrecía al disminuir la asimilación de CO_2 . Resultados coincidentes se observan en el presente trabajo con una correlación positiva entre el AFE y la A_{max} , aunque los valores obtenidos no son estadísticamente significativos ($r = 0,144$).

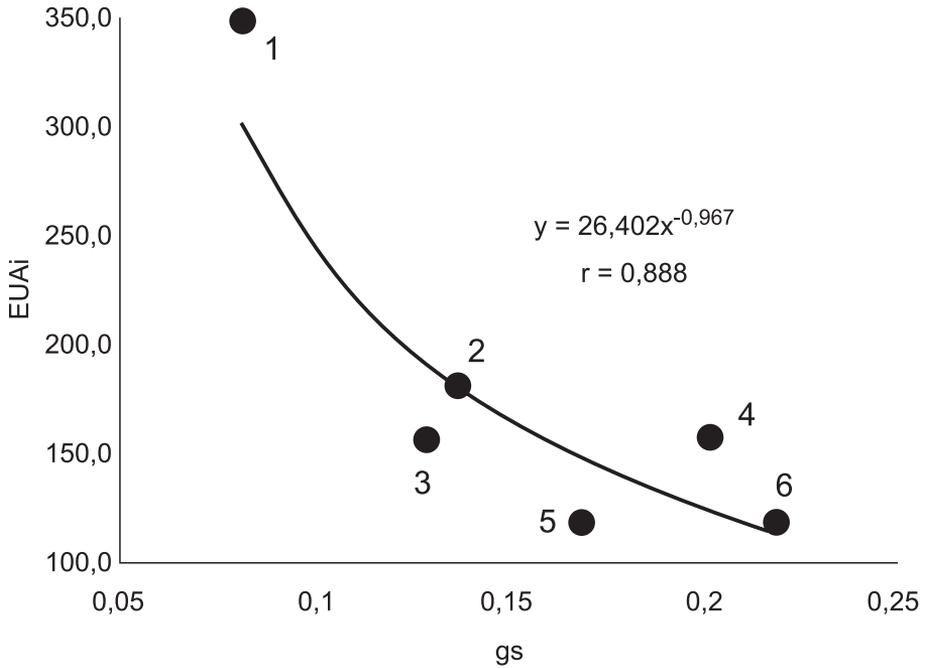


Fig. 6. *Chenopodium quinoa*. Relación entre eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUAi) y conductancia estomática (gs) para las variedades: Kancolla (1), Sayaña (2), Quinoa Blanca (3), CICA (4), CO-407 (5) y Quinoa Roja (6). Cada punto representa el promedio de 5 plantas distintas con 5 lecturas por planta.

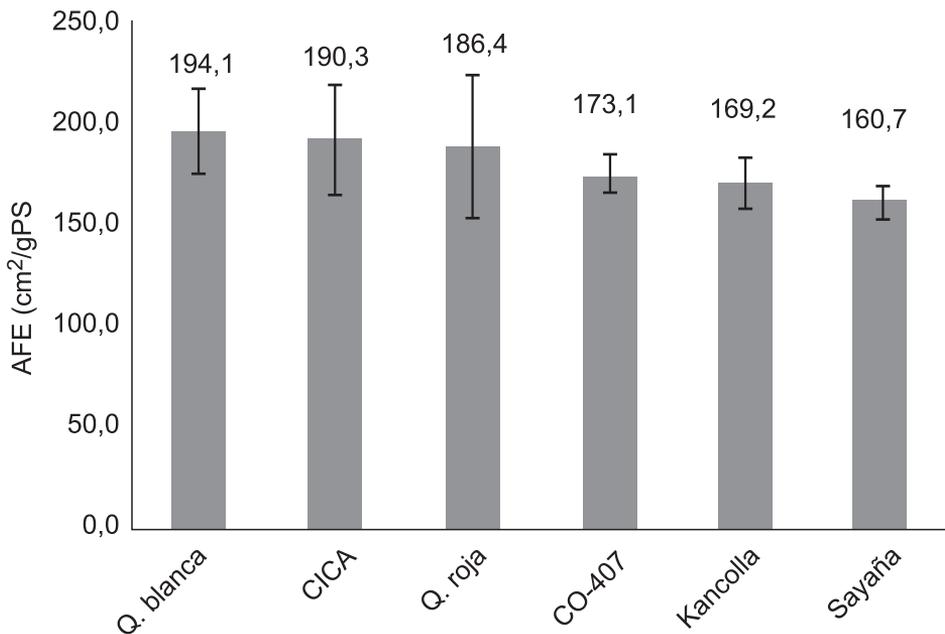


Fig. 7. *Chenopodium quinoa*. Área Foliar Específica (AFE) para cada una de las variedades estudiadas. La barra representa la desviación standard (n=5).

2.2. CORRELACIÓN ENTRE A_{MAX} Y VARIABLES ANATÓMICAS FOLIARES

2.2.1. Densidad, tamaño e índice estomático.— En la Tabla 2 se resumen los datos relacionados a la densidad estomática (DE), tamaños estomáticos (largo y ancho) e índice estomático (IE). Todas las variedades estudiadas son anfiestomáticas con DE mayor en la epidermis inferior salvo en la variedad Quinoa Roja donde la DE no difiere significativamente entre ambas epidermis (aproximadamente 83 estomas/mm²). El análisis de correlación entre la DE y la superficie de los estomas muestra la existencia de una correlación lineal negativa; lo que significa que a medida que la DE aumenta disminuye el tamaño de los estomas. Esta tendencia es más marcada para la epidermis inferior ($r = -0,732$) que para la superior ($r = -0,630$) (Fig. 8).

Sin embargo, al correlacionar la sumatoria de las densidades estomáticas de ambas epidermis (DES+DEI) con A_{max} se detectó una correlación lineal positiva y significativa ($r = 0,854$) para ambas variables (Fig.9). El mismo resultado se obtiene al correlacionarla con la capacidad de carboxilación con un coeficiente de 0,855. Por otra parte, los análisis de correlación entre g_s con DE y/o con la superficie estomática no mostraron correlación. Tampoco se detectaron relaciones entre la suma de densidades estomáticas con g_s , Tr y Ci.

Por otro lado, sí se han detectado correlaciones lineales negativas entre el AFE y el espesor de la lámina ($r = -0,620$) (Fig. 10A) e incluso una correlación mayor cuando se la relaciona con el espesor del mesófilo en empalizada ($r = -0,767$) (Fig. 10B).

La existencia de hojas anfiestomáticas indicaría, según Parkhurst (1978), una adap-

Tabla 2. *Chenopodium quinoa*. Densidad estomática (DE), largo y ancho de los estomas e índice estomático (IE) en las variedades estudiadas.

Variedad	DE (estomas mm ²)		Tamaños estomáticos (μm)				IE	
	ES (DS)	EI (DS)	LES (DS)	AES (DS)	LEI (DS)	AEI (DS)	ES (DS)	EI (DS)
Blanca	75,2 (6,5)	110,3 (5,7)	29,8 (0,4)	21,1 (1,5)	28,9 (1,0)	21,3 (1,9)	13,2 (0,4)	18,8 (1,1)
CICA	126,6 (5,7)	149,1 (7,8)	21,8 (0,7)	14,9 (1,0)	23,4 (0,9)	19,6 (1,7)	12,5 (0,6)	11,7 (0,9)
CO-407	57,8 (2,0)	72,5 (4,2)	32,9 (1,0)	21 (2,0)	31,3 (1,1)	21,5 (1,5)	12,4 (0,6)	13,9 (1,2)
Q.Roja	82,9 (7,5)	82,7 (9,9)	28 (0,2)	19,9 (0,8)	29,1 (0,5)	20,3 (0,5)	13,6 (0,9)	15,8 (1,5)
Sayaña	65,4 (7,5)	111,7 (1,8)	31,8 (0,3)	27,2 (1,2)	26,7 (0,2)	20,2 (1,5)	10,8 (0,9)	15,3 (0,2)
Kancolla	76,4 (2,2)	160,8 (6,3)	27,6 (0,2)	16,2 (0,9)	25,2 (0,5)	16,1 (1,6)	10,6 (0,3)	14,7 (1,0)

DE: Densidad estomática; ES: Epidermis superior; EI: Epidermis inferior, DS: desviación standard correspondientes a 4 plantas distintas con 10 conteos al microscopio por planta. LES y AES: largo y ancho estomático en ES; LEI y AEI: largo y ancho estomático en EI; IE: índice estomático.

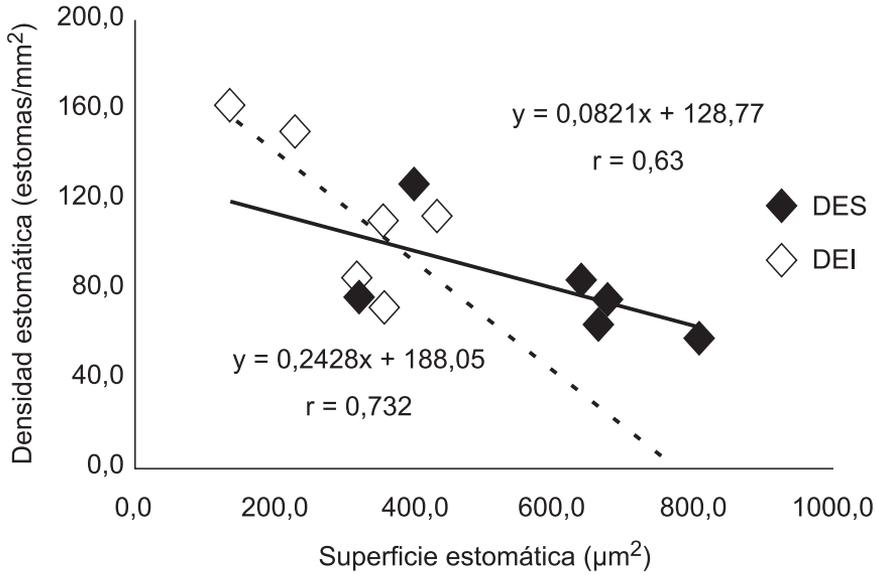


Fig. 8. *Chenopodium quinoa*. Relación entre densidad estomática (DE) y superficie estomática para las seis variedades estudiadas. DES: Densidad estomática superior; DEI: Densidad estomática inferior.

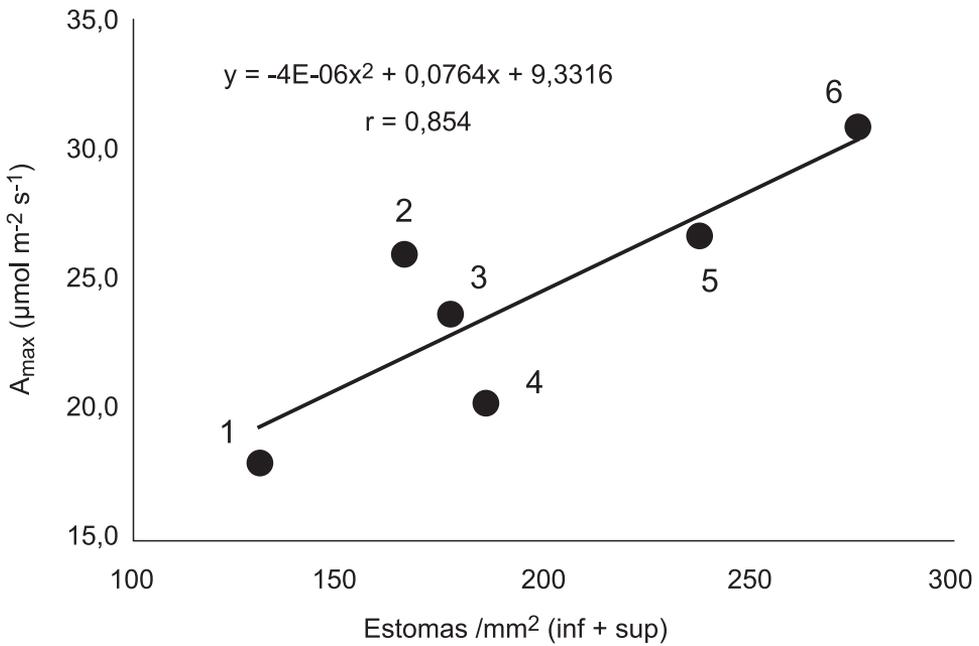


Fig. 9. *Chenopodium quinoa*. Relación entre A_{max} y densidad estomática total ($DE_{tot}=DES+DEI$) de las variedades estudiadas: CO-407 (1), Quinoa Roja (2), Sayaña (3), Quinoa Blanca (4), Kancolla (5) y CICA (6).

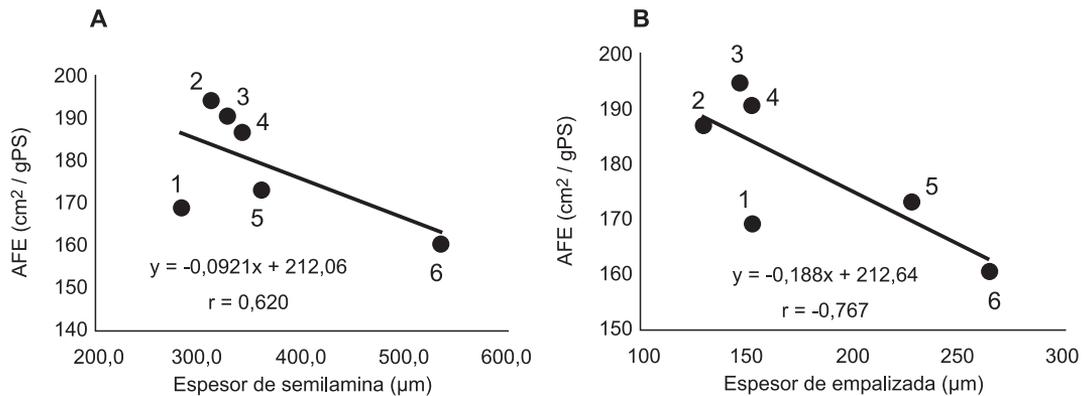


Fig. 10. *Chenopodium quinoa*. (A) Relación entre AFE y espesor de la semilámina: Kancolla (1), Quinoa Blanca (2), CICA (3), Quinoa Roja (4), CO-407 (5) y Sayaña (6); (B) Relación entre AFE y espesor del tejido en empalizada: Kancolla (1), Quinoa Roja (2), Quinoa Blanca (3), CICA (4), CO-407 (5) y Sayaña (6).

tación a condiciones xerofíticas. Sin embargo, esta afirmación queda minimizada pues hay hojas anfiestomáticas en plantas de selva e incluso en hoja de plantas acuáticas. Sin embargo, si se consideran, además de la anfiestomaticidad, otros caracteres como la disminución de la superficie foliar, la disminución del potencial osmótico e hídrico y el aumento de la A_{max} , densidad estomática, conductancia estomática y el espesor de los tejidos o masa foliar por unidad de área, todos ellos se relacionan claramente con una mejor adaptación a ambientes con alta irradiación y escasa humedad (Abrams, 1993; Ivanova, 2014). Algunas de estas consideraciones se reflejan en «quinoa» como por ej. en las variedades CICA y Kancolla en cuanto a su DE, estructura anatómica y A_{max} . Abrams (1993) sugiere que genotipos xerofíticos producen hojas adaptadas a condiciones de estrés hídrico y con respuestas fisiológicas que se traducen en una plasticidad fenotípica foliar, la cual permite a la especie la adaptación a un gran rango de tolerancia ambiental, como es el caso de la quinoa.

Por otro lado, el IE permite la comparación de hojas de diferentes variedades y en diferentes estadios de desarrollo (Radoglou y Jarvis, 1990; Croxdale *et al.*, 1992). Sin embargo, como representa una medida estimativa de la DE en función del número de células epidérmicas, el cambio de células

epidérmicas a estomáticas, o el aumento en el tamaño de las células epidérmicas puede incrementar el IE, aun cuando la frecuencia estomática por unidad de área permanece constante (Croxdale, 2000). También puede suceder a la inversa, el IE puede permanecer constante aun cuando hay cambios en la DE por unidad de área, debido al incremento en el número de estomas o la reducción en el tamaño de las células epidérmicas. Por esta razón no se debe tener en cuenta un único tipo de estimación de la DE para toda circunstancia. Las diferencias observadas entre las DE y los IE de las variedades de quinoa ensayadas, pueden deberse a modificaciones epidérmicas causadas por la confluencia de múltiples factores ambientales o genéticos y la plasticidad adaptativa de las mismas a diversos ambientes. Es interesante notar que los IE estomáticos se mantienen similares entre las diferentes variedades, no así la frecuencia estomática.

2.2.2. Espesor de tejidos y asimilación fotosintética.— En relación a la estructura interna de la hoja, en especial al número de estratos del tejido en empalizada, se observó que difiere según la variedad considerada. Las variedades CICA y Kancolla presentan disposición isolateral (tres estratos de empalizada adaxial), conformados por células prismáticas rectangulares con su semieje

mayor dispuesto de forma perpendicular a la epidermis superior y tres estratos de empalizada abaxial de células más cortas). Las variedades Quinoa Roja y Sayaña presentan tres estratos en la empalizada adaxial, tres de tejido esponjoso y un estrato de empalizada abaxial con células cortas. La variedad CO-407 presenta tres estratos de empalizada adaxial, uno de esponjoso y uno de empalizada abaxial con células cortas. Finalmente, Quinoa Blanca presenta estructura dorsiventral con dos (raramente tres) estratos de empalizada y tres estratos de esponjoso.

Al relacionar la disposición de los tejidos con la A_{\max} surge que las hojas isolaterales de CICA y Kancolla tienen mayores tasas de asimilación fotosintética. En contraposición, las hojas bilaterales, o con una pequeña empalizada hacia la epidermis inferior, presentan una A_{\max} menor. Esto sugiere que la presencia de un único estrato de células cor-

tas en empalizada hacia la epidermis inferior, no contribuye de forma significativa a la eficiencia fotosintética. Esto puede ser dilucidado realizando mediciones de asimilación fotosintética en ambas epidermis como ya se ha realizado para otras especies cultivadas (Palliotti y Cartechini, 2001; Proietti y Palliotti, 1997) pero no fue el objetivo de este trabajo.

Al relacionar la suma de las densidades estomáticas de ambas epidermis con la A_{\max} se distinguen relaciones importantes. Así, las variedades CICA y CO-407, que presentan la mayor y menor densidad por mm^2 respectivamente, presentan también los valores máximos y mínimos de A_{\max} . Esto explicaría porque Kancolla, que tiene la misma estructura anatómica que CICA, presenta menor asimilación fotosintética ya que su densidad estomática es menor. Asimismo, la variedad Blanca, que presenta estructura

Tabla 3. Contenido de clorofila total (Cl $a+b$), clorofila a (Cl a), clorofila b (Cl b), relación clorofila a /clorofila b (Cl a /Cl b) y carotenoides (Carot.) en las distintas variedades de *Chenopodium quinoa*.

	Cl a (mg g^{-1} PS)	Cl b (mg g^{-1} PS)	Cl $a+b$ (mg g^{-1} PS)	Cl a /Cl b	Carot. (mg g^{-1} PS)
Q. Roja	2,757 (0,23)b	1,453 (0,21)b	4,210 (0,42)b	1,914 (0,18)a	1,271 (0,12)b
Q. Blanca	2,354 (0,08)ab	0,997 (0,09)ab	3,351 (0,15)ab	2,372 (0,18)ab	1,189 (0,04)ab
CICA	2,212 (0,20)a	0,770 (0,16)a	2,982 (0,36)a	2,924 (0,35)b	1,088 (0,10)ab
CO-407	2,543 (0,30)ab	1,174 (0,35)ab	3,717 (0,65)ab	2,273 (0,48)ab	1,188 (0,13)ab
Kancolla	2,198 (0,14)a	0,960 (0,16)a	3,159 (0,30)a	2,32 (0,25)ab	1,028 (0,08)a
Sayaña	2,133 (0,24)a	0,974 (0,20)a	3,107 (0,43)a	2,225 (0,24)a	0,994 (0,11)a

Los datos corresponden a la media de 5 plantas distintas. El valor entre paréntesis corresponde a la desviación estándar. Los valores promedios seguidos por la misma letra dentro de la misma columna no presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

anat6mica bilateral (con menor desarrollo de tejido fotosint6tico) y un valor intermedio de DE se encuentra entre las variedades de menor A_{\max} .

3. CONTENIDO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS Y PROTECTORES

3.1. CONTENIDO CLOROFILA Y CAROTENOIDES

Los datos de clorofila total ($a+b$), clorofila a , clorofila b y carotenoides se resumen en la Tabla 3.

Los contenidos de clorofila total y carotenoides no mostraron diferencias significativas entre las variedades estudiadas (Tabla 3). Los valores m6ximo y m6nimo fueron 4,21 mg g⁻¹ PS (Quinoa Roja) y 2,98 mg g⁻¹ PS (CICA). De un modo similar, el contenido de carotenoides tampoco mostr6 variaciones significativas. Aunque se ha demostrado la existencia de una correlaci6n positiva entre el contenido de clorofila y la asimilaci6n de CO₂ para otras especies (Morgan y LeCain, 1991), nuestros resultados demuestran que para «quinoa» no se aplicar6a esta generalidad, probablemente debido a la existencia de una interacci6n m6s compleja entre los pigmentos fotosint6ticos y la fijaci6n de carbono.

Tabla 4. Contenido de pigmentos protectores (absorbentes de UV-B) en las variedades estudiadas.

	A_{305} g ⁻¹ PS
CICA	5,16 (0,28)b
Q. blanca	5,15 (0,83)b
Kancolla	4,65 (0,28)ab
Sayaña	4,35 (0,28)ab
CO-407	4,29 (0,58)ab
Q. roja	3,99 (0,30)a

Los datos corresponden a la media de 5 plantas distintas. El valor entre par6ntesis corresponde a la desviaci6n est6ndar. Los valores promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

3.2. PIGMENTOS PROTECTORES

El contenido de pigmentos protectores, que absorben a 305 nm, se muestra en la Tabla 4. Los valores, m6ximo y m6nimo, fueron 5,16 A_{305} g⁻¹ PS (CICA) y 3,99 A_{305} g⁻¹ PS (Quinoa Roja). El an6lisis de la varianza mostr6 una correlaci6n negativa entre el contenido de pigmentos protectores y el espesor de la l6mina. No obstante, el valor del coeficiente r result6 demasiado bajo ($r = -0,38$). Por otro lado, si se tiene en cuenta que la cut6cula superior es la primera barrera contra la radiaci6n visible y ultravioleta B (UV-B), es esperable que su espesor se correlacione con el contenido de pigmentos protectores localizados en las c6lulas de la epidermis superior (Hilal *et al.*, 2004). El an6lisis demostr6 que existe una correlaci6n ($r = -0,457$) entre las variables mencionadas.

CONCLUSIONES

Los valores de A_{\max} encontrados en este estudio se hallan dentro de los informados para otras variedades de la misma especie. En efecto, Gonz6lez *et al.* (2010) comunicaron tasas fotosint6ticas, que oscilaban entre 14,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 34,9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Teniendo en cuenta el origen de las variedades utilizadas en este estudio se encontr6 una tendencia que indicari6a que las variedades originarias de lugares de alta montaña (por arriba de los 2.750 m) exhiben una A_{\max} mayor que aquellas variedades provenientes de sitios de menor altitud. Sin embargo, se aclara que es necesario realizar los mismos estudios en otras variedades, originarias de otras altitudes, para afianzar o no esta hip6tesis.

El an6lisis de los datos mostr6 que las interacciones entre las variables relacionadas al intercambio de gases no presentan un comportamiento similar en las variedades estudiadas. La relaci6n entre A_{\max} y g_s , en t6rminos generales, mostr6 una correlaci6n curvil6nea positiva. Sin embargo, un estudio m6s detallado revel6 que en dos de las seis variedades estudiadas dicha correlaci6n no fue muy clara. Existen numerosos factores, tanto fisiol6gicos como morfol6gicos, que

interactúan de forma compleja e influncian la A_{\max} de las variedades de quinoa estudiadas. Probablemente estas relaciones tengan su origen en la diversidad genética de las líneas parenterales de las cuales derivan, que les permiten una extraordinaria plasticidad funcional como es el hecho de poder desarrollarse tanto a nivel del mar como a media y alta montaña.

Tanto la capacidad de carboxilación como la EUAi fueron más altas en las variedades originarias de zonas de mayor altitud. Esto podría interpretarse en el sentido que las variedades de las zonas más elevadas desarrollaron una mayor eficiencia en el uso del agua y en la carboxilación, como una ganancia evolutiva para tolerar las condiciones extremas de los ambientes puneños y altoandinos y poder sobrevivir en ellos. Los resultados de este trabajo resultan de importancia para la selección de variedades capaces de prosperar en lugares con escasa potencialidad agrícola, como la zona de los Valles Calchaquíes en el Noroeste de Argentina, donde la entrada de agua por precipitaciones se halla por debajo de los 200 mm anuales; lo que limita enormemente el desarrollo de los cultivos tradicionales.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del INTA que administra el Campo Demostrativo de Encalilla en la persona del Ing. Raúl Orell y del Sr. Martín Quiroga. Asimismo se agradece a la Fundación Miguel Lillo por su permanente apoyo al proyecto sobre estudios ecofisiológicos en «quinoa».

BIBLIOGRAFÍA

- Abrams M. D. 1993. Genotypic and phenotypic variation as stress adaptations in temperate tree species: a review of several case studies. *Tree Physiology* 14: 833-842.
- Ainsworth E. A., Davey P. A., Hymus G. J., Osborne C. P., Rogers A., Blum H., Nösberger J., Long S. P. 2003. Is stimulation of leaf photosynthesis by elevated carbon dioxide concentration maintained in the long term? A test with *Lolium perenne* grown for 10 years at two nitrogen fertilization levels under Free Air CO₂ Enrichment (FACE). *Plant, Cell and Environment* 26 (5): 705-714.
- Centritto M., Lauteri M., Monteverti M. V., Serraj R. 2009. Leaf gas exchange, carbon isotope discrimination, and grain yield in contrasting rice genotypes subjected to water deficits during the reproductive stage. *Journal of Experimental Botany* 60 (8): 2325-2339.
- Croxdale J. L., Johnson J. B., Smith J., Yandell B. 1992. Stomatal patterning in *Tradescantia*: an evaluation of the cell lineage theory. *Developmental Biology* 167: 39-46.
- Croxdale J. L. 2000. Stomatal patterning in angiosperms. *American Journal of Botany* 87 (8): 1069-1080.
- Chapelle E. W., Kim M. S., McMurtrey J. E. III. 1992. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sensing of Environment* 39 (3): 239-247.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Editora Hemisferio Sur S. A., Buenos Aires, Argentina. 83 pp.
- Dizeo de Strittmater, C. G. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15 (1): 126-129.
- Eisa S., Hussin S., Geissler N., Koyro H. W. 2012. Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. *Australian Journal of Crop Science* 6 (2): 357-368.
- Farquhar G. D., Sharkey T. D. 1982. Stomatal conductances and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33: 317-345.
- Galmés J., Medrano H., Flexas J. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* 175 (1): 81-93.
- González J. A., Bruno M., Valoy M., Prado F. E. 2010. Genotypic variation of gas exchange parameters and leaf stable carbon and nitrogen isotopes in ten quinoa cultivars grown under drought. *Journal of Agronomy and Crop Science* 197 (2): 81-93.
- González J. A., Konishi Y., Bruno M., Valoy M., Prado F. E. 2011. Interrelationships among seed yield, total protein and amino acid composition of ten quinoa (*Chenopodium quinoa*) cultivars from two different agroecological regions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92 (6): 1222-1229.

- Hilal M., Parrado M. F., Rosa M., Gallardo M., Massa E. M., González J. A., Prado F. E. 2004. Epidermal lignin deposition in quinoa cotyledons in response to UV-B radiation. *Photochemistry and Photobiology* 79 (2): 205-210.
- Ivanova L. A. 2014. Adaptive Features of Leaf Structure in Plants of Different Ecological Groups. *Russian Journal of Ecology* 45 (2): 107–115
- Jacobsen S. E., Liu F., Jensen C. R. 2009. Does root-sourced ABA play a role for regulation of stomata under drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Scientia Horticulturae* 122: 281-287.
- Lawlor D. W. 2001. *Photosynthesis*. 3rd edn. BIOS Scientific Publishers Ltd, New York, USA. 386 pp.
- Liu F., Stützel H. 2004. Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress. *Scientia Horticulturae* 102 (1): 15-27.
- Misra S. C., Shinde S., Geerts S., Rao V. S., Monneveux P. 2009. Can carbon isotope discrimination and ash content predict grain yield and water use efficiency in wheat ?. *Agricultural Water Management* 97 (1): 57-65.
- Mirecki R., Teramura A. H. 1984. Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean. V. The dependence of plants sensitivity on the photosynthetic photon flux density during and after leaf expansion. *Plant Physiology* 74 (3): 475–480.
- Morgan J. A., LeCain D. R. 1991. Leaf gas exchange and related leaf traits among 15 winter wheat genotypes. *Crop Science* 31 (2): 443-448.
- Pallioti, A, Cartechini A. 2001. Photosynthetic light response curves in relation to illumination of adaxial and abaxial surfaces of sun and shade leaves of *Vitis* Parkhurst D. F. 1978. The Adaptive Significance of Stomatal Occurrence on One or Both Surfaces of Leaves. *Journal of Ecology* 66 (2): 367-386.
- Proietti P, Pallioti A. 1997. Contribution of the adaxial and abaxial surfaces of olive leaves to photosynthesis. *Photosynthetica* 33 (1): 63-69.
- Radoglou K. M., Jarvis P. G. 1990. Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. II. Leaf surface properties. *Annals of Botany* 65: 627-632.
- Tardieu F., Granier C., Muller B. 1999. Modelling leaf expansion in a fluctuating environment: are changes in specific leaf area a consequence of changes in expansion rate. *New Phytologist* 143 (1): 33-43.
- Van den Boogaard R., Alewijnse D., Veneklaas E. J., Lambers H. 1997. Growth and water-use efficiency of 10 *Triticum aestivum* cultivars at different water availability in relation to allocation of biomass. *Plant, Cell and Environment* 20: 200-210.
- Wellburn A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144 (3): 307-313.
- Wilkinson H. 1979. The plant surface (mainly leaf). En Metcalfe C.R. y Chalk L. (editores). *Anatomy of Dicotyledons*, Clarendon Press, Oxford, London, UK, pp. 97-165.
- Wong S. C., Cowan I. R., Farquhar G. D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* 282: 424-426.