

Intercambio de gases y su relación con la fluorescencia de clorofila en plantas de chile pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) bajo estrés hídrico

Gas exchange and chlorophyll fluorescence relations in bell pepper plants (*Capsicum annuum* L.) under water stress

Huitziméngari Campos^{1*}, Abel Villa-Mancera¹, Carlos Trejo², Fernando Utrera-Quintana¹,
Tonatiu Campos-García³, Silvia Edith García-Díaz⁴, Felipe Alejandro Hernández-García⁵,
Juan Ricardo Cruz-Aviña¹, Noemi Pérez-Mendoza¹, José Roberto Báez-Parada¹

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Carretera Tecamachalco-Cañada Morelos, km 7.5, El Salado, 75460 Tecamachalco, Puebla, México.

²Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, México, 56230, México.

³Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación de Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Camino Arenero 1227, El Bajío, 45019, Zapopan, Jalisco, México.

⁴División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, km 38.5, Chapingo, 56235, Texcoco, Estado de México, México.

⁵Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Querétaro, Libramiento Poniente 2000, Real de Juriquilla, 76230, Querétaro, México.

*Autor para correspondencia: huitzi.campos@correo.buap.mx

Fecha de recepción:

13 de marzo de 2023

Fecha de aceptación:

14 de julio de 2023

Disponible en línea:

23 de marzo de 2024

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-

NoComercial-

CompartirIgual 4.0

Internacional

(CC BY-NC-SA 4.0)

RESUMEN

La disponibilidad de agua es una de las limitaciones más importantes para la fotosíntesis y la productividad de las plantas. En el presente estudio se llevó a cabo un experimento con plantas de chile pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.), sometidas a estrés hídrico mediante la reducción del riego. El objetivo fue evaluar los efectos del estrés hídrico en las reacciones primarias de la fotosíntesis y en la asimilación de CO₂; de igual manera, se buscaba examinar si existe una relación entre los parámetros evaluados. Se empleó un método biofísico no destructivo, llamado fluorescencia de clorofila, en conjunto con un reflectómetro de tiempo, cámaras psicrométricas y un aparato para medir fotosíntesis, con los cuales se hicieron mediciones del potencial de agua del suelo (Ψ_s) y hoja (Ψ_l), del intercambio de gases y de la fluorescencia de clorofila en la hoja. Los parámetros de fluorescencia revelaron una disminución en la absorción y el flujo de energía en condiciones de estrés hídrico. De manera similar, la tasa de asimilación de CO₂ (A), la conductancia estomática (g_s) y la transpiración (Tr) disminuyeron con el déficit de agua. La medición de fluorescencia PI_{total} mostró ser un método efectivo para la detección temprana del estrés hídrico, por lo que puede ser una guía útil en el manejo del riego.

PALABRAS CLAVE

Fotosíntesis, horticultura, intercambio de gases, relaciones hídricas, sequía

ABSTRACT

Water availability is one of the most important limitations to photosynthesis and plant productivity. An experiment was performed with bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants subjected to water stress by reducing irrigation amounts. The aim was to assess the effects of water stress in both photochemistry and CO₂ assimilation rates, and to quantify if there is a relation between the measured parameters. We used non-destructive biophysical methods called chlorophyll fluorescence together with a time reflectometer, psychrometric chambers and a photosynthesis device, with which we measured soil (Ψ_s) and leaf water potential (Ψ_l), gas exchange, and chlorophyll fluorescence at different times. The chlorophyll a fluorescence parameters showed a decline in

photosynthetic electron transport and energy fluxes due to water stress. Similarly, CO₂ assimilation rates (A), stomatal conductance (g_s), and transpiration (Tr) decreased with increasing water deficit. Fluorescence measured by PI_{total} shown to be an effective method for the early detection of water stress and it could be a useful guide in irrigation scheduling.

KEYWORDS

Photosynthesis, horticulture, gas exchange, water relations, drought

INTRODUCCIÓN

La restricción de agua es una de las limitaciones que más afecta la fotosíntesis y productividad de las plantas (Tezara et al. 1999). Su efecto en la fotosíntesis puede ser directo, mediante limitaciones difusivas a través de los estomas y el mesófilo o por medio de alteraciones en el metabolismo fotosintético (Campos et al. 2014; Chaves et al. 2009). Los estomas se cierran en respuesta a la disminución de la turgencia de la hoja, al aumento del déficit de presión de vapor en la atmósfera o por señales químicas generadas en la raíz (Chaves et al. 2009), lo que limita el suministro de CO₂ hacia los sitios de carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco). También pueden presentarse limitaciones fotoquímicas y de la conversión cuántica fotosintética (Shangguan et al. 2000), lo que disminuye la tasa fotosintética por el aumento proporcional de los centros de reacción (RCs) inactivos y la consecuente inhibición de la transferencia de electrones (Shao et al. 2010).

Actualmente, hay un limitado mejoramiento del rendimiento de los cultivos en condiciones de sequía, con manejo genético o agronómico de la eficiencia en el uso del agua y tolerancia a la sequía por las plantas (Boyer 1996; Ilyas et al. 2021). El recurso inicial para mejorar el rendimiento en condiciones de sequía es aumentar la eficiencia en el suministro de agua y el tiempo de aplicación del riego (Boyer 1996). Por lo tanto, es esencial el monitoreo apropiado del estrés hídrico de la planta, y se necesita el desarrollo apropiado y sostenible de programas de riego para la producción de cultivos en áreas semiáridas (Parkash y Singh 2020).

Entre las técnicas disponibles, en la actualidad, para evaluar el nivel de estrés hídrico en términos de fotosíntesis, la medición de la fluorescencia de clorofila a (Chl a) es una opción viable, ya que es un indicador

muy sensitivo del proceso de transporte de electrones fotosintético (Kalaji et al. 2017; Tóth et al. 2008). El análisis del aumento rápido de la fluorescencia con la prueba JIP (Strasser et al. 2004) ha probado ser una herramienta invaluable en el monitoreo de la integridad funcional de la planta (Stirbet y Govindjee 2011). La evidencia experimental demuestra que las tres fases del aumento rápido de la fluorescencia (OJIP) (Strasser et al. 1995) reflejan tres procesos diferentes de la reducción de la cadena de transporte de electrones (Schansker et al. 2005). La fase O-J (0-3 ms) es la parte fotoquímica de la traza, cuya cinética depende fuertemente de la intensidad luminosa (Neubauer y Schreiber 1987). La fase J-I (3-30 ms) corresponde a la reducción del almacén de plastoquinonas (PQ; Schreiber et al. 1989) y la fase I-P representa la reducción del reservorio de ferredoxina (Fd), cuando la ferredoxina-NADP⁺ reductasa está inactiva (Schansker et al. 2005).

Las trazas OJIP dependen de las propiedades cinéticas de la cadena de transporte de electrones. Por ello, es útil conocer la relación entre dichas propiedades y el crecimiento de la planta. Van Heerden et al. (2007) observaron, en dos arbustos del desierto (*Augea capensis* Thunb. y *Zygophyllum prismatocarpum* E. Meyer ex Sond.), una correlación alta entre la disminución de la capacidad de asimilación de CO₂ y la disminución del índice de desempeño (PI_{ABS}). Estos autores sugieren que esta observación es evidencia de la relación entre los cambios en las propiedades de la traza OJIP y la capacidad fotosintética total. Contrariamente, según Adams-III y Demmig-Adams (2004), la eficiencia del FSII no provee información directa de la fotosíntesis neta, debido a que el flujo de electrones no es utilizado necesariamente en el metabolismo de carbono, pues puede ser redirigido a otras rutas bioquímicas, como la reducción de oxígeno (reacción de Mehler) o la fotorespiración. No obstante, existe evidencia de que la disminución en los parámetros derivados de la prueba

JIP, como F_v/F_m o PI_{ABS} , puede estar conectada con la disminución de la fotosíntesis (Albert et al. 2011; Van Heerden et al. 2003), debido a que en ciertas condiciones ecológicas la eficiencia “potencial” y la “actual” tienden a estar relacionadas. Recientemente, la incorporación de parámetros que describen la reducción de los aceptores finales del FSI ($\varphi_{Ro} = RE_0/ABS$ y $\delta_{Ro} = RE_0/ET_0$) y el parámetro relacionado PI_{total} (Tsimilli-Michael y Strasser 2008) han proporcionado más información a la discusión acerca de la relación entre los parámetros del aumento polifásico de la fluorescencia y el intercambio de gases. Además, las mediciones de la fluorescencia de Chl *a* son altamente sensibles, no destructivas, rápidas y no requieren fuentes de energía alta, como el láser, y pueden realizarse remotamente, con métodos pasivos o activos (Baker y Rosenqvist 2004). En la presente investigación, se evaluaron los efectos del estrés hídrico en las reacciones primarias de la fotosíntesis y en la asimilación de CO_2 en plantas de *Capsicum annuum* L., con el objetivo de examinar si existe una relación entre los parámetros derivados de la prueba JIP y la asimilación de CO_2 . Con lo anterior, se espera probar la hipótesis de que los parámetros de fluorescencia de Chl *a* derivados de la prueba JIP están relacionados con los procesos de fijación de CO_2 .

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y tratamientos

Se sembraron 70 semillas de *C. annuum* cultivar Cannon (Zeraim Gedera®, Israel) en una charola germinadora con turba (Premier® Sphagnum peat moss Turba de Sphagnum, Premier Horticulture Ltée, Quebec, Canadá) como sustrato. De éstas, 36 plántulas fueron trasplantadas en contenedores de 250 mL con suelo del tipo Leptosol y colocadas en una cámara de crecimiento con ambiente semi-controlado (Thermo Scientific® 846 Incubator, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Estados Unidos), con fotoperiodo de 12 h, con $382 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa (PAR) al nivel de las plantas. La humedad relativa varió en promedio entre 40 y 50 por ciento. Los contenedores se regaron con una solución de Ultrasol Multipropósito (Ultrasol® Multipropósito, Sociedad

Química y Minera de Chile, Santiago de Chile, Chile) 18-18-18 (N-P₂O₅-K₂O) y una conductividad eléctrica de 2 dS m^{-1} , complementada con elementos menores, y fue aplicada diariamente con el agua de riego. Cincuenta días después de la siembra, fueron divididas en dos grupos de 18 plantas cada uno; un grupo se mantuvo con riego (testigo) y el otro con estrés hídrico. Las plantas testigo fueron regadas diariamente para mantener el contenido de agua volumétrico (θ_v) entre 30 y 45 por ciento (ver sección siguiente para detalles). Contrariamente, en el otro grupo de plantas el estrés hídrico se indujo progresivamente mediante la reducción en la cantidad de agua de riego, añadiendo sólo 10 por ciento de la humedad aprovechable. Las mediciones fueron realizadas en varios intervalos, durante el ciclo de déficit hídrico (216 h de duración), con lo que se obtuvo un gradiente de condiciones de estrés hídrico. El experimento se llevó a cabo bajo un diseño completamente al azar.

Evaluación del estado hídrico del suelo

El contenido de agua volumétrico del suelo (θ_v) se midió en los primeros 8 cm de la superficie con un reflectómetro de tiempo (HH2 moisture Meter®, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido), conectado a un sensor WET (WET-2 Sensor®, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido). Previamente, se determinaron en el laboratorio distintos niveles del θ_v desde capacidad de campo hasta 5 por ciento de humedad aprovechable, mediante la adición de volúmenes conocidos de agua a volúmenes conocidos de sustrato seco y en cada uno se midió la constante dieléctrica aparente con el reflectómetro de tiempo; con esto se obtuvo la curva de calibración específica del suelo utilizado (Figura 1). Al mismo tiempo, se midió el potencial de agua del suelo (Ψ_s) en dichos niveles de humedad, con cámaras psicrométricas C-52 (C-52 Sample Chamber®, Wescor Inc., Utah, Estados Unidos) y se relacionó con la reflectometría de tiempo mediante el ajuste de una curva hiperbólica inversa; de esta forma se obtuvo un estimado indirecto del Ψ_s en cualquier momento (Figura 2).

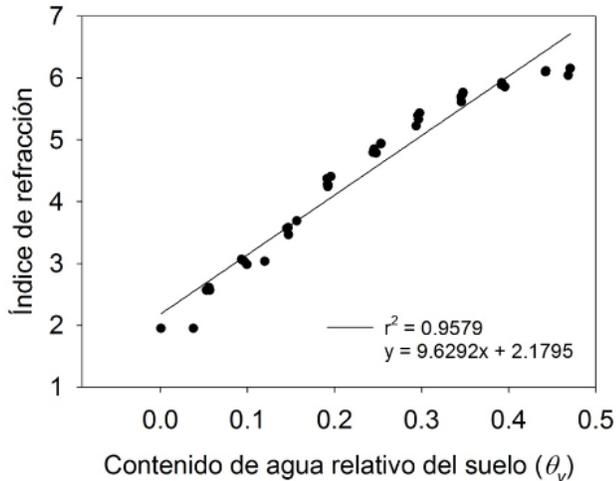


Figura 1. Curva de calibración específica para la obtención de la constante dieléctrica aparente (pendiente de la ecuación) en el suelo utilizado que es suministrada al reflectómetro de tiempo (HH2 moisture Meter®, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido), conectado a un sensor (WET-2 Sensor®, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido).

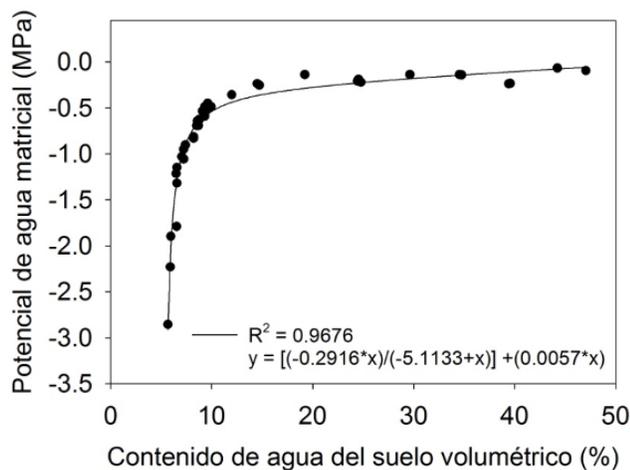


Figura 2. Relación entre el contenido de agua (SWC) y el potencial de agua (Ψ_s) del suelo utilizado. El SWC fue estimado mediante un reflectómetro de tiempo (HH2 moisture Meter®, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido), conectado a un sensor WET (WET-2 Sensor®, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido) y el Ψ_s se determinó con cámaras psicrométricas C-52 (C-52 Sample Chamber®, Wescor Inc., Utah, Estados Unidos) adjuntas al HR-33® Dewpoint Microvoltmeter (Wescor Inc., Utah, Estados Unidos). Se ajustó una función de hipérbola rectangular a los datos y fue utilizada para estimar el Ψ_s en cualquier momento con sólo la estimación del SWC con el sensor WET.

Potencial de agua de la hoja

El potencial de agua de la hoja (Ψ_L) se midió en discos foliares de 0.5 cm de diámetro que fueron colocados en cámaras C-52® (Wescor Inc., Utah, Estados Unidos), previamente equilibradas por 3 h a temperatura constante, mediante la técnica de punto de rocío. Para esta medición se usó un HR-33® Dewpoint Microvoltmeter (Wescor Inc., Utah, Estados Unidos). Las mismas hojas

en las que se midió el Ψ_L fueron previamente utilizadas para la medición del intercambio de gases y fluorescencia de la Chl *a*, como se describe a continuación.

Medición simultánea del intercambio de gases y fluorescencia de Chl *a*

Se midió el intercambio de gases foliar de CO₂ y H₂O en hojas completamente desarrolladas, con un sistema portátil de análisis de gases en el espectro infrarrojo (Ciras-1®, PP Systems, Amesbury, Estados Unidos). Las hojas fueron previamente aclimatadas por 5 min con iluminación a saturación (1050 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, concentración de CO₂, 370 ppm, humedad relativa en la cámara foliar de 45%-55% y temperatura de 25 °C). Simultáneamente, con la medición del intercambio de gases se determinó, en la misma hoja, la fluorescencia de Chl *a* en tejido oscurecido por 1 h con clips foliares. Las trazas OJIP (50 μs a 1 s) de la fluorescencia fueron medidas con un fluorómetro PEA (Plant Efficiency Analyser®, Hansatech Instruments Ltd, King's Lynn, Norfolk, Reino Unido). Se estipula que O es el nivel de fluorescencia inicial (50 μs), J (2 ms) e I (30 ms) son niveles intermedios y P (500 ms a 1 s) es el nivel máximo (Strasser et al. 1995). Las trazas se obtuvieron al exponer (1.0 s) las hojas a un haz de luz roja (650 nm) de 3,200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, generado con seis diodos emisores y enfocado en un punto de 5 mm de diámetro. Las trazas OJIP (Figura 3) fueron analizadas con la prueba JIP, como se describe a continuación.

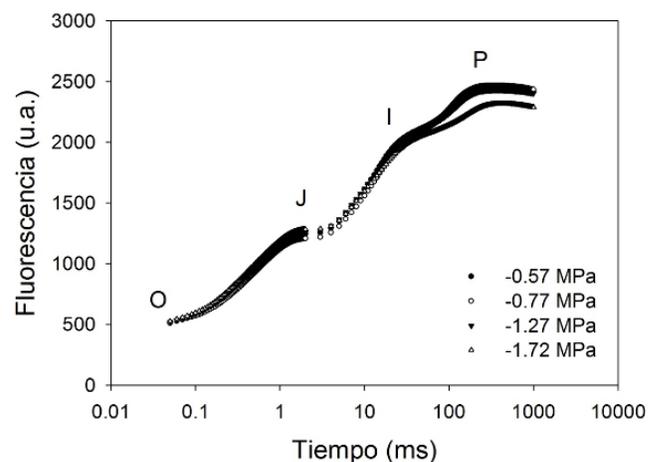


Figura 3. Ejemplos de las trazas de fluorescencia de Chl *a* polifásica (OJIP) en hojas de *C. annuum* con riego adecuado (● -0.57 MPa Ψ_L) y con distintos niveles de estrés hídrico (○ -0.77 Ψ_L , ▼ -1.27 Ψ_L , ▲ -1.72 Ψ_L).

Análisis de las trazas de fluorescencia

La prueba JIP es un análisis multiparamétrico del aumento rápido de la fluorescencia OJIP (Strasser et al. 2004; Tsimilli-Michael 2019). Se asume que, en la oscuridad, el aceptor de electrones primario del FS II, una quinona (Q_A), está oxidado (cuando todos los centros de reacción están abiertos) y la intensidad de la fluorescencia al inicio de la iluminación F_0 (al origen O) es mínima. El aumento rápido de la fluorescencia propiciado por la luz actínica refleja el cierre de los RC (Centro de Reacción) (reducción de la Q_A). Con luz actínica intensa (por ejemplo, 3,000 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la intensidad de la fluorescencia F_p (al pico P) es igual a la fluorescencia máxima (F_M), cuando la Q_A está totalmente reducida (todos los RC están "cerrados"). La secuencia de eventos, reflejada en el aumento de la fluorescencia, se realiza a diferentes velocidades y concomitantemente el aumento es polifásico (Strasser et al. 1995).

La fase OJ refleja un evento fotoquímico de recambio individual, dado que (i) el paso J aparece al mismo tiempo que F_M cuando la reoxidación de la Q_A es bloqueada por un inhibidor en las muestras evaluadas, como el 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimetilurea (DCMU), y (ii) las fases OJ de muestras con y sin DCMU son idénticas cuando las curvas son normalizadas entre los niveles O y J. La fase JI refleja la reducción de los acarreadores de electrones intersistemas, como los aceptores de electrones secundarios quinona (Q_B), plastoquinona (PQ), citocromo (Cyt) y plastocianina (PC), mientras que la fase IP refleja la reducción de los aceptores de electrones del FSI, como la ferredoxina (Fd), otros intermediarios y NADP (Strasser et al. 1995; Strasser et al. 2004; Tsimilli-Michael 2019).

Ecuaciones de la prueba JIP

Las ecuaciones de la prueba JIP están basadas en la Teoría del Flujo de la Energía en Biomembranas (Strasser et al. 2004; Tsimilli-Michael 2019). La prueba JIP representa un traslado de los datos originales de fluorescencia en parámetros biofísicos que cuantifican el flujo de energía representado por el conocido esquema Z de la fotosíntesis. Así, la cascada de energía inicia con la absorción (ABS) de luz por los pigmentos antena del FSII y finaliza con la reducción de los

aceptores de electrones finales en el lado aceptor de electrones del FSI (RE) impulsado por el FSI. Los flujos de energía intermedios son el flujo de captura (TR), definido como el flujo de energía que lleva a la reducción de los aceptores de electrones del FSII, feofitina (Pheo) y Q_A , y el flujo del transporte de electrones (ET) que se refiere al transporte de electrones más allá de la Q_A .

Los siguientes parámetros fueron calculados (Cuadro 1) y se refieren al tiempo cero (inicio de la inducción de la fluorescencia): (a) los flujos de energía específica por centro de reacción para la absorción (ABS/RC), captura (TR_0/RC), transporte de electrones (ET_0/RC) y reducción de los aceptores finales en el lado aceptor del FSI (RE_0/RC); (b) las proporciones de flujo o producciones, como la producción cuántica máxima de la fotoquímica primaria ($\phi_{P_0} = 1 - (F_0/F_M) = F_p/F_M$). ϕ_{P_0} corresponde a la eficiencia con la cual un fotón absorbido puede ser capturado por los centros de reacción del FSII (TR_0/ABS). Éste ha sido frecuentemente utilizado como una medida de la eficiencia máxima de la fotoquímica del FSII (Baker 1991; Krause y Weis 1991).

La probabilidad de que un excitón capturado mueva un electrón hacia la cadena del transporte de electrones más allá de la Q_A ($\psi_{E_0} = ET_0/TR_0$), la producción cuántica del transporte de electrones ($\varphi_{E_0} = ET_0/ABS$), la producción cuántica para la reducción de los aceptores finales del FSI por fotón absorbido ($\varphi_{R_0} = RE_0/ABS$) y la eficiencia con la cual un electrón puede moverse de los aceptores de electrones intersistemas reducidos hacia los aceptores de electrones finales del FSI ($\delta_{R_0} = RE_0/ET_0$); (c) el índice de desempeño (PI_{ABS}) es uno de los parámetros de la fluorescencia de clorofila que provee información útil y cuantitativa acerca del estado fisiológico de las plantas y su funcionalidad. La expresión para el índice de desempeño es derivada en analogía a la ecuación de Nernst, que es utilizada para determinar el potencial redox de un sistema:

$$PI_{ABS} = \left[\frac{\gamma_0}{1-\gamma_0} \right] \left[\frac{\varphi_{P_0}}{1-\varphi_{P_0}} \right] \left[\frac{\psi_0}{1-\psi_0} \right]$$

El símbolo γ representa la tasa de clorofilas de los centros de reacción y la clorofila total del FSII. La expresión $\gamma_0/(1-\gamma_0)$ es proporcional a los parámetros estimados por la prueba JIP igual a la tasa de centros de reacción y la absorbancia (RC/ABS). Por lo tanto:

$$\frac{\gamma_0}{(1-\gamma_0)} \frac{Chl_{RC}}{Chl_{antena}}$$

Cuadro 1. Fórmulas y definiciones de los términos utilizados por la prueba JIP para el análisis de las trazas de fluorescencia OJIP emitida por muestras fotosintéticas adaptadas a la oscuridad (Strasser et al. 2004; Strasser et al. 2010).

| Datos extraídos del registro de las trazas de fluorescencia OJIP | |
|---|--|
| F_t | Fluorescencia al tiempo t después de la iluminación actínica |
| $F_{50\mu s}$ | Fluorescencia mínima registrada y confiable a los 50 μs por el PEA |
| $F_{100\mu s}$ | Fluorescencia a 100 μs |
| $F_{300\mu s}$ | Fluorescencia a 300 μs |
| $F_J = F_{2ms}$ | Fluorescencia al paso J (2 ms) de la OJIP |
| $F_I = F_{30ms}$ | Fluorescencia al paso I (30 ms) de la OJIP |
| $F_P (=F_M)$ | Registro de fluorescencia máxima (=máximo posible), pico P de la OJIP |
| tFM | Tiempo (en ms) para alcanzar la fluorescencia máxima F_M |
| Área | Área complementaria total entre la curva de inducción de la fluorescencia y $F-F_M$ |
| Parámetros de fluorescencia derivados de los datos extraídos | |
| $F_0 = F_{50ms}$ | Fluorescencia mínima, cuando todos los RC están abiertos |
| $F_M (=F_P)$ | Fluorescencia máxima, cuando todos los RC están cerrados (= F_P cuando la intensidad de luz actínica está por arriba de los 500 mmol fotones $m^{-2} s^{-1}$ y siempre que todos los RC estén activos reduciendo Q_A) |
| $Fv = F_t - F_0$ | Fluorescencia variable al tiempo t |
| $F_v = F_M - F_0$ | Fluorescencia variable máxima |
| $S_m = \text{Área}/(F_M - F_0) = \text{Área}/F_v$ | Área normalizada |
| $V_t = Fv/F_v = (F_t - F_0)/(F_M - F_0)$ | Fluorescencia variable relativa al tiempo t |
| $M_0 = [(DF/Dt)_0]/(F_M - F_{50ms}) = 4(F_{300ms} - F_{50ms})/(F_M - F_{50ms})$ | Pendiente inicial aproximada (en ms^{-1}) de la traza de fluorescencia normalizada sobre la fluorescencia variable máxima F_v |
| Parámetros biofísicos derivados de los parámetros de fluorescencia | |
| $EC/RC = S_m = \text{Área}/(F_M - F_0)$ | Una medida de los acarreadores de electrones totales por RC |
| $ABS/RC = M_0(1/V_J)(1/j_{P_0})$ | Flujo de absorción (de las Chls antena) por RC (también una medida del tamaño de la antena aparente del FSII) |
| $TR_0/RC = M_0(1/V_J)$ | Flujo de energía capturada (que lleva a la reducción de Q_A) por RC |
| $ET_0/RC = M_0(1/V_J)(1 - V_J)$ | Flujo del transporte de electrones (más allá de la Q_A) por RC |
| $RE_0/RC = M_0(1/V_J)(1 - V_I)$ | Flujo de electrones que reducen a los aceptores de electrones en el lado aceptor del FSI, por RC |
| Producciones cuánticas y eficiencias/probabilidades | |
| $\varphi_{Pt} = TR_t/ABS = [1 - (F_t/F_M)] = DF_t/F_M$ | Producción cuántica de la fotoquímica primaria a cualquier tiempo t , acorde con la ecuación general de Paillotin (1976) |
| $\varphi_{P_0} = TR_0/ABS = [1 - (F_0/F_M)]$ | Producción cuántica máxima de la fotoquímica primaria |
| $\psi_{E_0} = ET_0/TR_0 = (1 - V_J)$ | Eficiencia/probabilidad de que un electrón se mueva más allá que la Q_A |
| $\varphi_{E_0} = ET_0/ABS = [1 - (F_0/F_M)](1 - V_J)$ | Producción cuántica para el transporte de electrones (ET) |
| $\delta_{R_0} = RE_0/ET_0 = (1 - V_I)/(1 - V_J)$ | Eficiencia/probabilidad con la cual un electrón de los acarreadores de electrones intersistemas es transferido para reducir los aceptores de electrones finales en el lado aceptor del FSI (RE) |
| $\varphi_{R_0} = RE_0/ABS = [1 - (F_0/F_M)](1 - V_I)$ | Producción cuántica para la reducción de los aceptores de electrones finales en el lado aceptor del FSI (RE) |
| $\gamma_{RC} = Chl_{RC}/Chl_{total} = RC/(ABS + RC)$ | Probabilidad de que una molécula de Chl del FSII funcione como RC |
| $RC/ABS = \gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC}) = \varphi_{P_0}(V_J/M_0) = (ABS/RC)^{-1}$ | Q_A que reduce los RC por Chl antena del FSII (recíproco de ABS/RC) |

Cuadro 1. Continuación

| Índices de desempeño (producto de términos que expresan los potenciales parciales en los pasos de las bifurcaciones de energía) | |
|---|---|
| $PI_{[RC]} = \frac{\gamma_{RC} \cdot \varphi_{Po} \cdot \psi_{Eo}}{1 - \gamma_{RC} \cdot 1 - \varphi_{Po} \cdot 1 - \psi_{Eo}}$ | Índice de desempeño (potencial) para la conservación de la energía de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores de electrones intersistemas |
| $PI_{total} = PI_{[RC]} \cdot \frac{\delta_{Ro}}{1 - \delta_{Ro}}$ | Índice de desempeño (potencial) para la conservación de la energía de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores finales del FSI |

$$\frac{RC}{[RC]} =$$

$\Psi_o = (1 - V_o)$ es la fracción de electrones transportados más allá de la Q_A^- por excitón capturado por los centros de reacción (RC) del FSII; Ψ_o representa la probabilidad de que la energía de un excitón capturado sea utilizada en el transporte de electrones más allá de Q_A^- . A su vez, (d) el PI_{total} es el producto del índice de comportamiento y la probabilidad de que un electrón pueda moverse de los aceptores de electrones intersistemas reducidos hacia los aceptores finales de electrones del FSI y se define como sigue (Tsimilli-Michael y Strasser 2008): $PI_{total} = PI_{ABS} \times \delta_{Ro} / (1 - \delta_{Ro})$.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante regresión lineal con Sigma Plot® versión 9.01 (Systat Software, Inc., Point Richmond, Estados Unidos). El coeficiente de correlación de Pearson se calculó entre todas las variables de fotosíntesis y las variables del estado hídrico de suelo y planta, utilizando el programa SAS v. 9.1 (SAS Institute Inc., Carolina del Norte, Estados Unidos) (Cuadro 2). Se realizaron pruebas de normalidad y pruebas de varianza constante de manera previa al análisis estadístico mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y el rango de correlación

Cuadro 2. Correlaciones entre los parámetros derivados del intercambio de gases y los parámetros de las relaciones hídricas con los de la prueba JIP en plantas de *C. annuum* con déficit de agua en el suelo.

| Parámetro | A | g_s | Tr | Int CO ₂ | LT | Ψ_s | Ψ_L |
|---------------------------|----------|---------|---------|---------------------|----------|----------|----------|
| Ψ_s | 0.88*** | 0.93*** | 0.91*** | 0.88*** | -0.43** | 1 | 0.78*** |
| Ψ_L | 0.79*** | 0.78*** | 0.76*** | 0.79*** | -0.53*** | 0.78*** | 1 |
| t_{FM} | -0.38* | -0.47** | -0.24 | 0.30 | 0.76*** | -0.31 | -0.47** |
| Área | 0.21 | 0.11 | 0.15 | 0.09 | 0.22 | 0.18 | -0.08 |
| F_0 | -0.29 | -0.16 | -0.13 | 0.17 | 0.17 | -0.05 | 0.07 |
| F_M | 0.03 | 0.09 | -0.001 | -0.07 | -0.05 | 0.11 | 0.09 |
| F_V | 0.08 | 0.13 | 0.02 | -0.10 | -0.09 | 0.12 | 0.08 |
| M_0 | -0.49** | -0.32 | -0.40* | 0.17 | 0.04 | -0.31 | -0.15 |
| EC/RC | 0.17 | 0.05 | 0.16 | 0.14 | 0.28 | 0.13 | -0.11 |
| ABS/RC | -0.56*** | -0.37* | -0.38* | 0.31 | 0.28 | -0.32 | -0.40* |
| TR _o /RC | -0.53*** | -0.34* | -0.39* | 0.27 | 0.24 | -0.30 | -0.24 |
| ET _o /RC | -0.35* | -0.23 | -0.21 | 0.29 | 0.39* | -0.17 | -0.26 |
| RE _o /RC | 0.28 | 0.26 | 0.30 | 0.28 | 0.17 | 0.30 | 0.06 |
| $\varphi_{Po} = TR_o/ABS$ | 0.23 | 0.18 | 0.05 | -0.19 | -0.18 | 0.10 | -0.004 |
| $\psi_{Eo} = ET_o/TR_o$ | 0.34* | 0.21 | 0.31 | -0.03 | 0.15 | 0.23 | 0.01 |
| $\varphi_{Eo} = ET_o/ABS$ | 0.35* | 0.23 | 0.27 | -0.09 | 0.06 | 0.22 | 0.01 |
| $\delta_{Ro} = RE_o/ET_o$ | 0.44** | 0.37* | 0.41* | 0.19 | 0.04 | 0.40* | 0.18 |
| $\varphi_{Ro} = RE_o/ABS$ | 0.46** | 0.37* | 0.41* | 0.12 | 0.03 | 0.39* | 0.15 |
| RC/ABS | 0.53*** | 0.35* | 0.36* | -0.28 | -0.26 | 0.29 | 0.38* |
| RC/CS _o | 0.57*** | 0.41* | 0.48** | -0.29 | -0.24 | 0.45** | 0.46** |
| DI _o /RC | -0.49** | -0.35 | -0.27 | 0.32 | 0.29 | -0.26 | -0.14 |
| PI _{ABS} | 0.46** | 0.30 | 0.33* | -0.16 | -0.08 | 0.28 | 0.08 |
| PI _{total} | 0.52*** | 0.38* | 0.41* | 0.02 | -0.06 | 0.40* | 0.14 |

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001.

de Spearman (Minitab® versión 14.0, Minitab Inc., Pensilvania, Estados Unidos); si no se cumplían, se transformaron los datos mediante la transformación de Johnson y posteriormente se realizaron los análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Relaciones hídricas e intercambio de gases

La caída del Ψ_s por la restricción del suministro de agua causó que disminuyeran el Ψ_L (Figura 4A), así como las tasas de asimilación de CO_2 (A) (Figura 4B). El cierre estomático es uno de los principales procesos que se presentan en la hoja en respuesta al estrés hídrico. Bajo estrés hídrico, fue significativa la relación entre la conductancia estomática (g_s) y el Ψ_s en las plantas de *C. annuum* (Figura 4C). El mayor cierre estomático ocurrió con un Ψ_s de -0.4 a -0.6 MPa. La regulación del cierre estomático en las plantas de *C. annuum* por la disminución moderada del Ψ_s permite considerar a

la conductancia estomática como un indicador preciso del desarrollo del estrés hídrico; a su vez, la caída del Ψ_s disminuyó la pérdida de agua por transpiración (Tr), como se muestra en la Figura 4D.

Otros procesos fisiológicos afectados por el déficit de agua son la conductancia del mesófilo, la tasa de asimilación de CO_2 y la capacidad fotosintética (Flexas et al. 2006; Lawlor y Tezara 2009). Similarmente, la respuesta de las plantas de *C. annuum* a la disminución en el Ψ_L mostró que el estrés hídrico medio sólo redujo ligeramente la A , g_s y Tr , mientras que un estrés más severo redujo drásticamente los tres parámetros (Figura 5A-C). La g_s disminuyó drásticamente, de 300 hasta cerca de 0 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 5B). Dicha reducción es ocasionada por, al menos, dos componentes que son regulados casi simultáneamente: el cierre estomático y la reducción en la conductancia del mesófilo (Flexas et al. 2006). Además, se encontró una relación no lineal ($P < 0.0001$) entre la g_s y la A (Figura 6A), y una lineal entre la g_s y la Tr (Figura 6B), lo que indica que puede presentarse un cierre considerable de los estomas sin cambios o decrementos muy ligeros en la

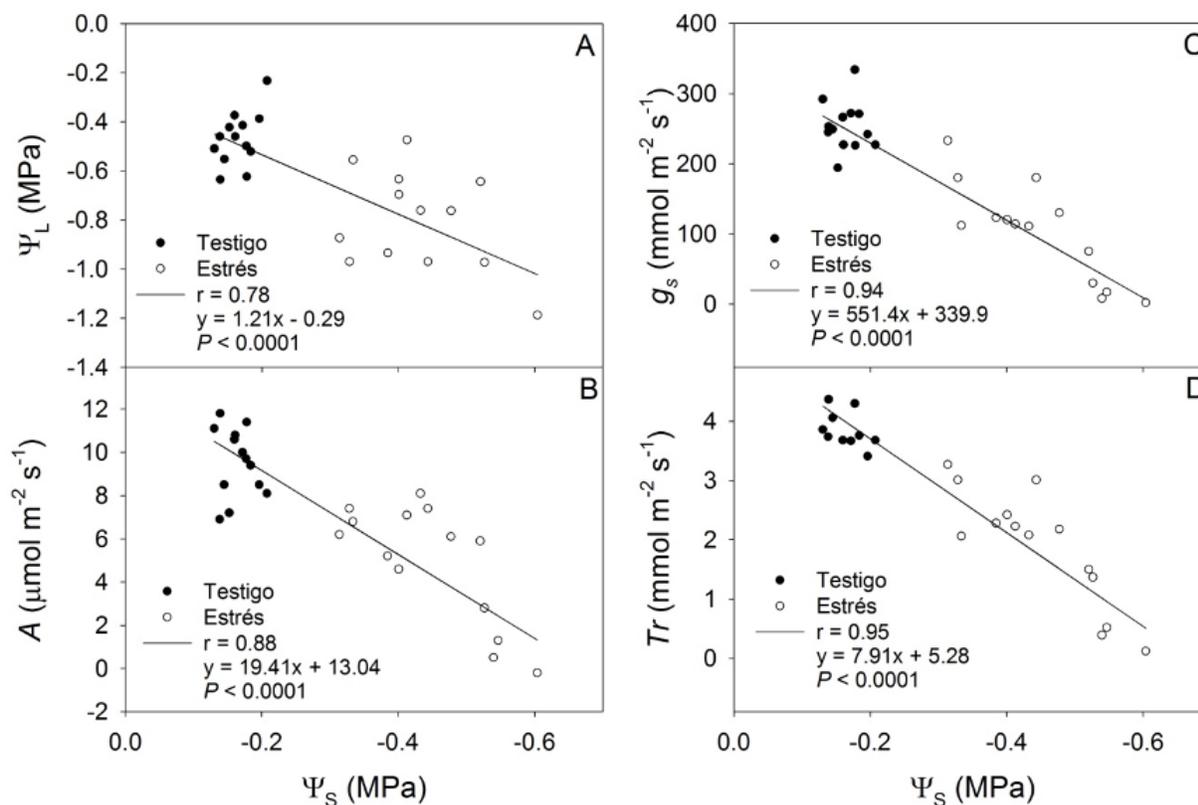


Figura 4. (A), Relación entre el potencial de agua del suelo y el potencial de agua de la hoja; (B), tasa de asimilación de CO_2 ; (C), conductancia estomática, y (D), transpiración en plantas de *C. annuum*. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

fotosíntesis, pero que significan una reducción considerable en la pérdida de agua por transpiración en los estados iniciales de desarrollo del estrés.

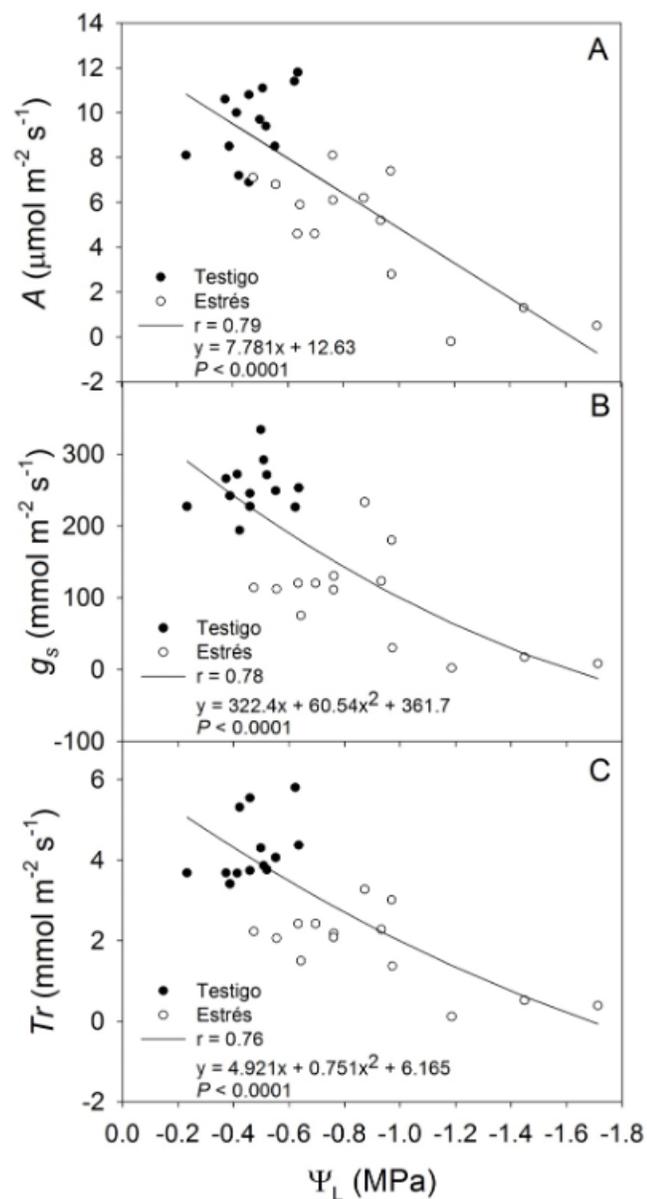


Figura 5. (A), Relación entre el potencial de agua de la hoja; (B), la tasa de asimilación de CO₂ conductancia estomática (g_s), y (C), transpiración (Tr) en plantas de *C. annuum*. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

El análisis con la prueba JIP mostró que la eficiencia máxima de la fotoquímica del FSII ($\varphi_{Po} = F_v/F_M = TR_v/ABS$) de las plantas de *C. annuum* en los distintos Ψ_L de la hoja fueron altos y constantes con valores alrededor de 0.8 (Figura 7A). No obstante, se observó mayor efecto en algunas de las producciones (Figura 7) y flujos específicos (Figura 8) durante el periodo de estrés hídrico, particularmente, en los parámetros $\varphi_{Ro} =$

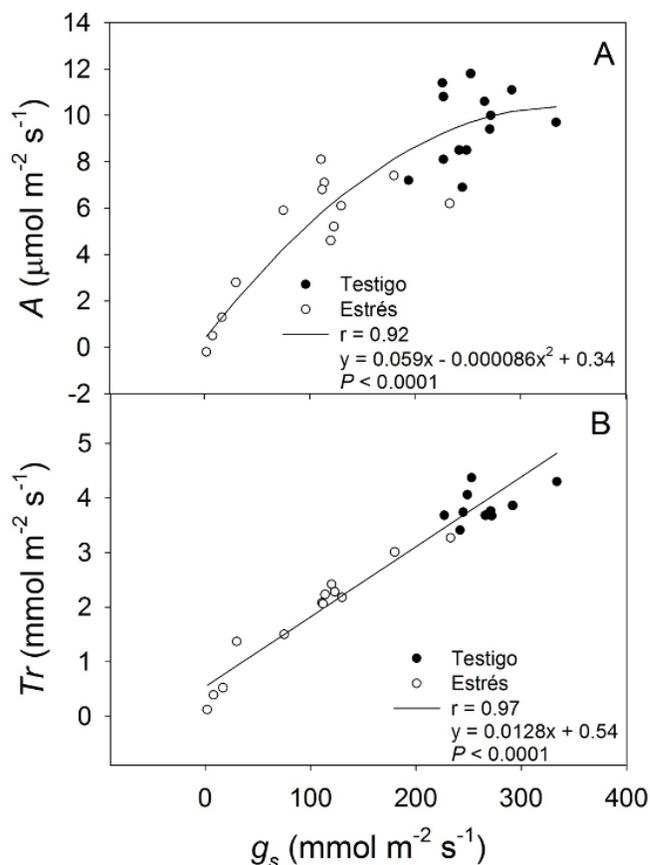


Figura 6. (A), Relación entre la conductancia estomática (g_s) y la tasa de asimilación de CO₂ y (B), la tasa de transpiración (Tr) en plantas de *C. annuum*. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

RE_v/ABS y $\delta_{Ro} = RE_v/ET_v$, que están relacionados con las eficiencias cuánticas o tasas de flujo, quienes mostraron una tendencia a reducirse conforme el Ψ_L fue menor (Figura 7C y 7E). Contrariamente, aquellos parámetros relacionados a los flujos de energía específicos de los centros de reacción activos del FSII mostraron una tendencia a aumentar, como la absorción (ABS/RC), la captura (TR_v/RC), el transporte de electrones (ET_v/RC) y la disipación (DI_v/RC) (Figuras 8A-D). Así, las plantas de *C. annuum* en condiciones de estrés mostraron un aumento en el tamaño aparente de la antena, representado por ABS/RC (Figura 8A). El aumento de ABS/RC (o decremento de los RC activos) fue acompañado por un incremento en la captura por los centros de reacción activos (TR_v/RC ; Figura 8B); dicho aumento fue responsable del ligero incremento de ET_v/RC (Figura 8C), porque éste contribuye a mantener sin cambio $\Psi_{Eo} = ET_v/TR_v$. Basados en el trabajo de Paillotin (1976), es posible definir RE_v/ABS (φ_{Ro}) o la producción cuántica con la cual los electrones reducen los aceptores finales

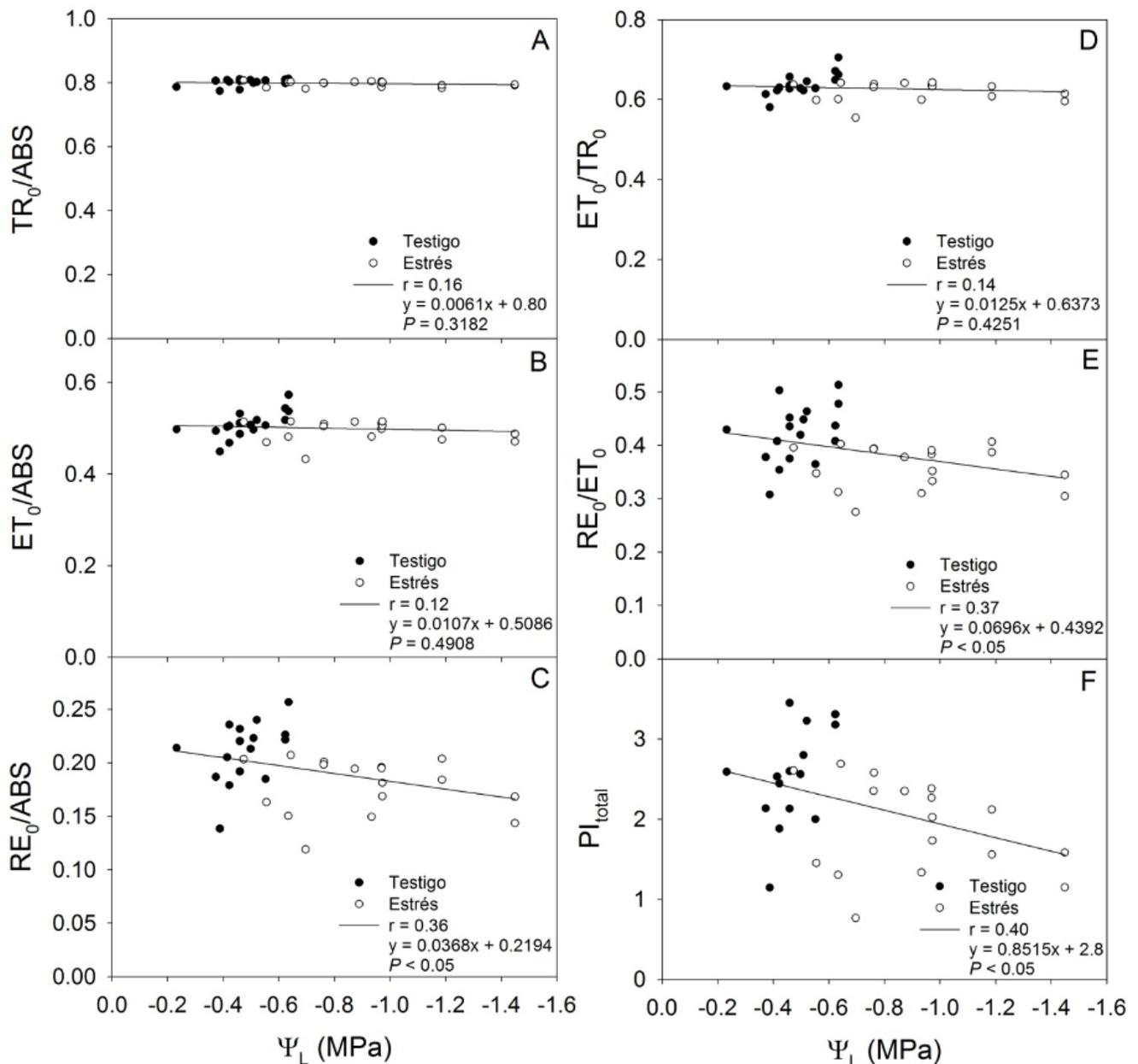


Figura 7. Producciones cuánticas de la captura de energía, flujo de electrones, probabilidades de la energía de excitación capturada para mover electrones a lo largo del transporte de electrones lineal e índice de desempeño para la conservación de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores finales del FSI en hojas de *C. annuum* con distinto potencial de agua foliar. (A) TR_0/ABS , producción cuántica máxima para la fotoquímica primaria; (B) ET_0/ABS , producción cuántica para el transporte de electrones; (C) RE_0/ABS , producción cuántica para la reducción de los aceptores finales de electrones del lado aceptor del FSI; (D) ET_0/TR_0 , probabilidad de que un electrón se mueva más allá de Q_A^- ; (E) RE_0/ET_0 , probabilidad con la cual un electrón de los acarreadores intersistemas es transferido para reducir los aceptores finales de electrones en el lado aceptor del FSI; (F), índice de desempeño PI_{total} para la conservación de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores finales del FSI. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

de electrones del FSI (Strasser et al. 2010). La producción cuántica (RE_0/ABS) disminuyó con el Ψ_L menor (Figura 9D). Lo anterior sugiere que, en condiciones de estrés hídrico, la maquinaria fotosintética fue regulada a nivel de los centros de reacción (inactivación) (ABS/RC), a nivel de la captura de la energía de excitación (TR_0/RC) y a nivel de la transformación de la energía de excitación capturada a energía para la reducción de los aceptores finales del FSI ($\varphi_{Ro} = RE_0/ABS$). En general,

la disminución de la g_s y de la capacidad fotosintética causa un consumo menor de NADPH y ATP en el Ciclo de Calvin y aumenta la necesidad para disipar energía de manera controlada dentro del FSII, mediante las rutas alternativas de transporte de electrones (Lawlor y Tezara 2009). El desempeño del FSII se evaluó utilizando el PI_{total} . Dicho índice depende de los parámetros que cuantifican cambios en la antena, los centros de reacción, el transporte de electrones y la reducción

de los aceptores finales de electrones. En consecuencia, el PI_{total} integra la respuesta de RC/ABS , TR_0/ABS , ET_0/TR_0 y RE_0/ET_0 . Los resultados mostraron que el estrés hídrico redujo el PI_{total} vía una reducción en RC/ABS y RE_0/ET_0 en las plantas de *C. annuum* (Figura 9). Esto es consistente con estudios previos que demuestran la respuesta del PI_{total} a la sequía, en donde dicho comportamiento se debe principalmente a impactos en RE_0/ET_0 (Albert et al. 2011; Oukarroum et al. 2009). La producción cuántica máxima TR_0/ABS ($=F_v/F_M$) no fue afectada por el estrés hídrico (Figura 7A), lo que se muestra acorde con otros estudios (Albert et al. 2011; Oukarroum et al. 2009), y confirma una estabilidad alta de la eficiencia fotoquímica potencial del FSII. Sin embargo, este parámetro sólo es sensible a cambios en F_0 y F_M (Yusuf et al. 2010), aunque existe evidencia de la disminución de F_v/F_M en condiciones de sequía severa (Filella et al. 1998).

Relación entre los parámetros de la prueba JIP y el intercambio de gases

Valores menores de $\Psi_{Eo} = ET_0/TR_0$ asociados a tasas bajas de asimilación de CO_2 (Figura 9A) indican una disminución de la reducción primaria de la Q_A . Esto es consecuencia de la disminución del transporte de electrones más allá de la Q_A , lo que limita la reacción de reoxidación (Haldimann y Strasser 1999). Los parámetros relacionados de la prueba JIP ($\delta_{Ro} = RE_0/ET_0$ y $\phi_{Ro} = RE_0/ABS$) reflejan la velocidad de la reducción de ferredoxina más allá del FSI (Schansker et al. 2003). Estos parámetros estuvieron correlacionados significativamente con las tasas de asimilación de CO_2 (Figuras 9C y 9D) y pueden ser considerados como indicadores tempranos del estrés hídrico. Además de la disminución de la reducción química de la ferredoxina se sabe que el estrés hídrico modifica la cantidad y actividad

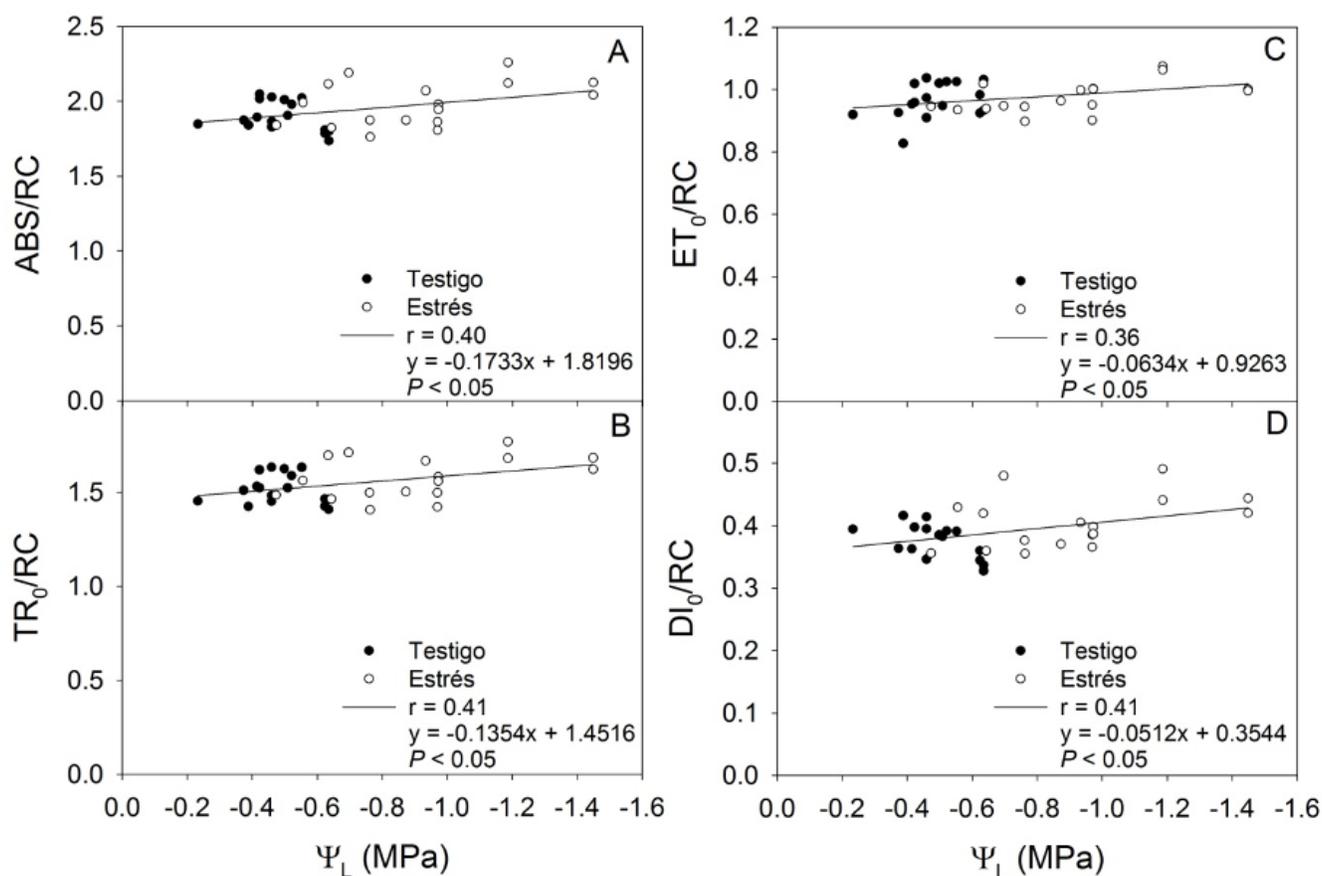


Figura 8. Flujos de energía específicos por centro de reacción activo del FSII en hojas de *C. annuum* con distinto potencial de agua foliar. ABS, TR_0 , ET_0 y DI_0 denotan la energía absorbida (A), energía capturada (B), transporte de electrones (C) y disipación de la energía (D), respectivamente. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

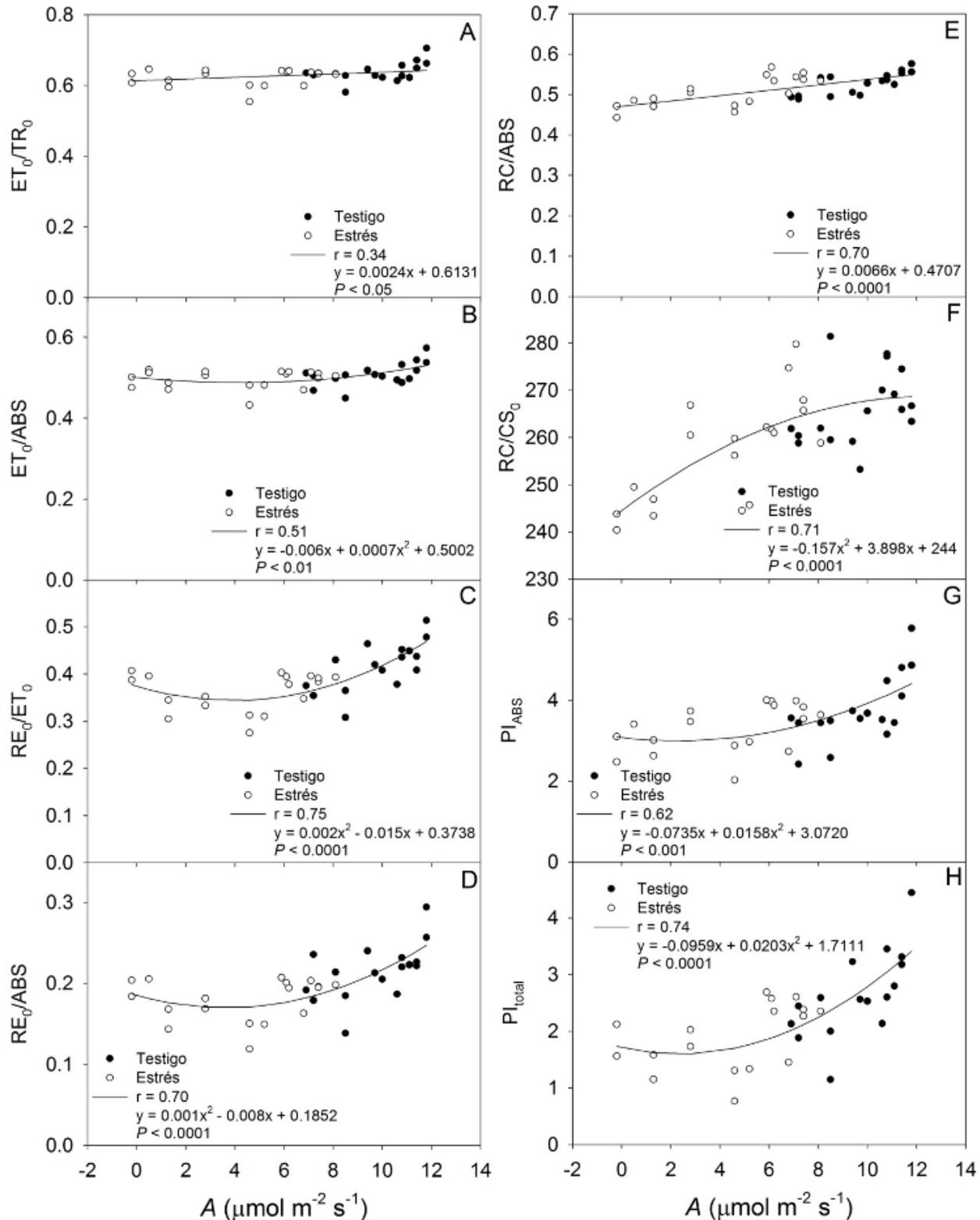


Figura 9. Relación entre la tasa de asimilación de CO₂ y (A) la probabilidad de que un excitón capturado mueva un electrón hacia la cadena de transporte de electrones más allá de Q_A; (B) la producción cuántica para el transporte de electrones, (C) la eficiencia con la cual un electrón de los acarreadores de electrones intersistemas se mueve para reducir los aceptores de electrones finales en el lado aceptor del FSI, (D) el aumento en la producción cuántica para la reducción de los aceptores de electrones finales en el lado aceptor del FSI, (E) con los centros de reacción reductores de Q_A por clorofila antena del FSII, (F) la cantidad de centros de reacción activos del FSII por sección cruzada al tiempo 0, (G) el aumento en el índice de desempeño (potencial) para la conservación de la energía de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores de electrones intersistemas y (H) con el aumento del índice de desempeño (potencial) para la conservación de la energía de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores finales del FSI en plantas de *C. annuum*. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

de la Rubisco (Lawlor y Tezara 2009), lo que aunado a las alteraciones que se presentan más allá del FSI pueden explicar la disminución de la fotosíntesis neta como una respuesta temprana al estrés hídrico.

Los índices de desempeño PI_{ABS} y PI_{total} son producto de los términos que expresan los potenciales parciales para la conservación de la energía desde el excitón hasta la reducción de los aceptores de electrones intersistemas y hasta la reducción de los aceptores finales del FSI, respectivamente (Strasser et al. 2010). El PI_{ABS} y PI_{total} se correlacionaron de una manera no lineal positiva con las tasas de asimilación de CO_2 (Figuras 9G y 9H). La disminución de ambos índices fue debida a la disminución de RC/ABS y ET_0/TR_0 en el PI_{ABS} , y también a la menor RE_0/ET_0 en el PI_{total} , que junto con la disminución de las concentraciones de CO_2 intercelular, debidas al cierre estomático, origina una discrepancia entre la tasa del transporte de electrones y la A ; así, las hojas absorben más energía radiante que la que pueden utilizar para la fijación de carbono en condiciones de estrés hídrico. Las A se correlacio-

naron positivamente y de manera no lineal con RC/CS_0 (Figura 9F), que expresa la densidad de los centros de reacción activos en relación con los inactivos (Strasser et al. 2004); estos últimos actúan como “pozas de calor” y son considerados parte de un mecanismo de regulación que disipa el exceso de energía absorbida de forma controlada (Bussotti et al. 2011). En este sentido, la caída de la A se relacionó linealmente y de una manera negativa con DI_0/RC , que cuantifica el flujo de energía disipada por centro de reacción (Figura 10D). Así, el FSII cambia de un proceso que convierte energía lumínica en energía metabólica almacenada a un proceso de conversión de la energía lumínica absorbida en calor y protege así al aparato fotoquímico. Además, la disipación segura del exceso de energía puede continuar a través de procesos de transporte de electrones incluso cuando la A disminuye (Flexas y Medrano 2002). Estos procesos incluyen la fotorrespiración (Wu et al. 1991), la ruta Mehler-ascorbato (Asada 1999) y el flujo de electrones cíclico del FSII (Canaani y Havaux 1990) o el FSI (Katona et al. 1992).

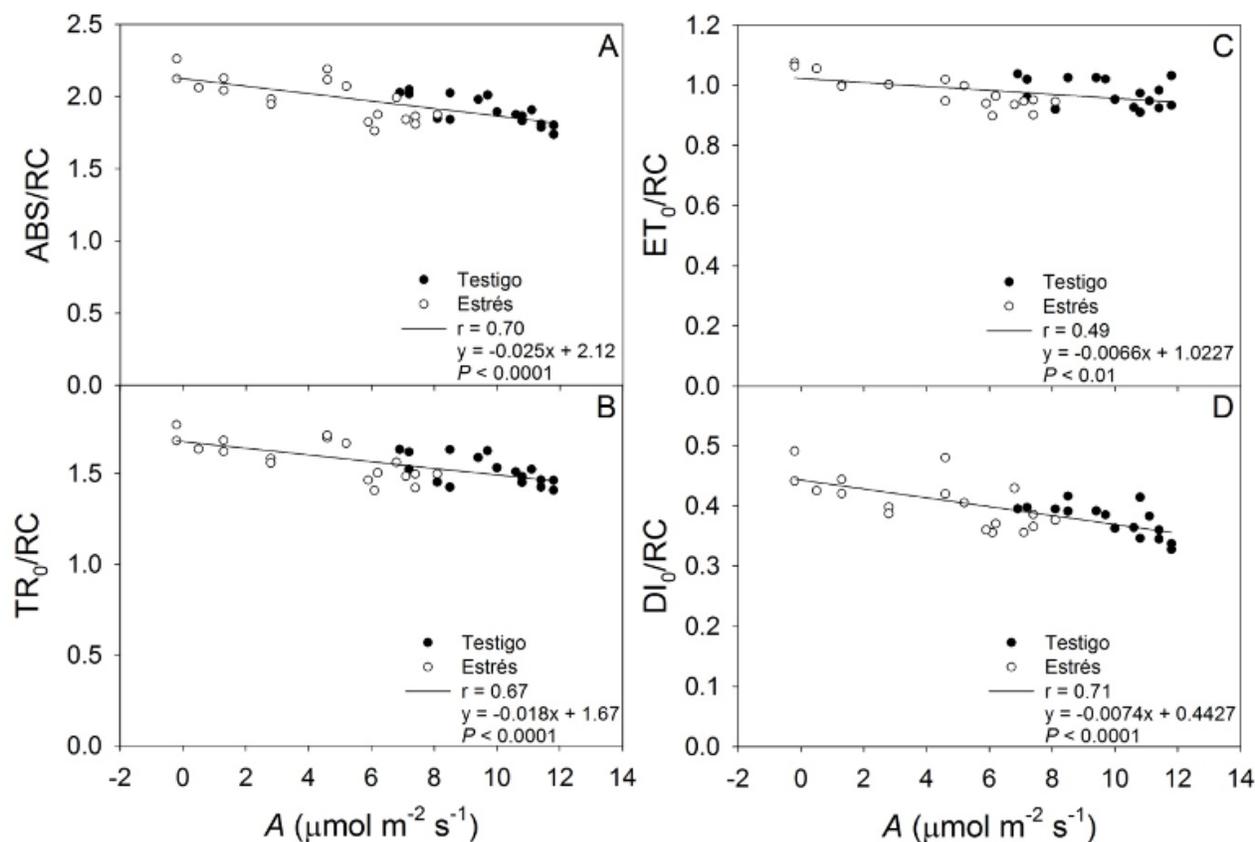


Figura 10. Relación entre la tasa de asimilación de CO_2 y (A) el flujo de absorción por centro de reacción, (B) el flujo de energía capturada por centro de reacción, (C) el flujo de transporte de electrones por centro de reacción y (D) el flujo de energía disipada por centro de reacción al tiempo 0 en plantas de *C. annuum*. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

Los resultados de este estudio mostraron que algunos parámetros de la prueba JIP a partir del aumento rápido de la fluorescencia de Chl *a* son indicadores adecuados de la disminución de la g_s durante el estrés hídrico. En efecto, los parámetros consolidan la cascada de eventos que siguen al cierre estomático en respuesta al estrés hídrico (Figura 11). Así, el aumento de la g_s estuvo relacionado significativamente

con el aumento de RE_0/ET_0 y RE_0/ABS , parámetros que reflejan la velocidad de la reducción química de la ferredoxina más allá del FSI (Schansker et al. 2003); con un incremento de RC/ABS , proporcional a la fracción de energía absorbida por las antenas del FSII (excitación) que alcanza los centros de reacción (Yusuf et al. 2010); con el aumento de la densidad de los centros de reacción activos en relación a los inactivos (RC/CS_0),

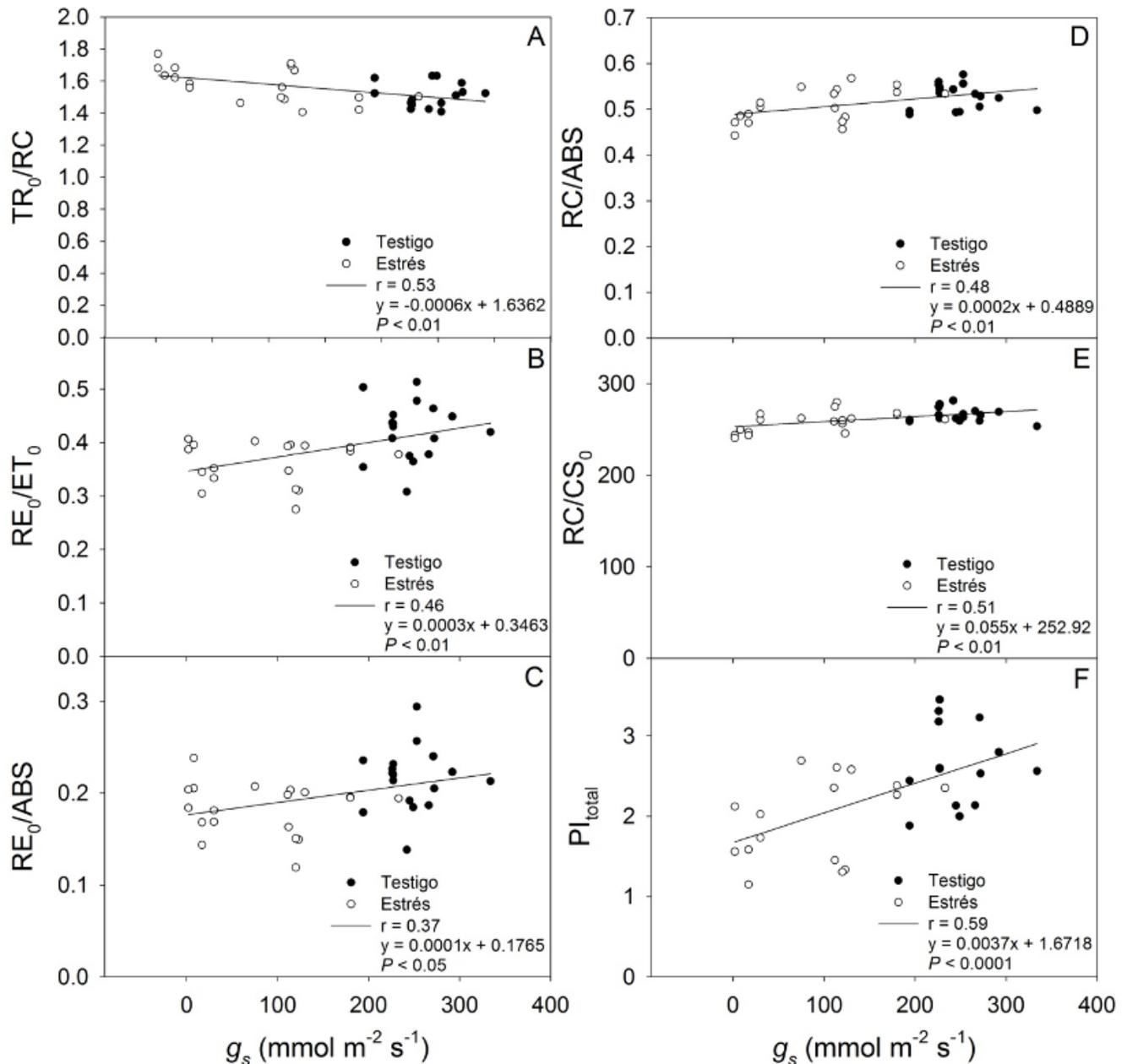


Figura 11. Relación entre la conductancia estomática (g_s) y (A) el flujo de energía capturada por RC; (B) probabilidad con la cual un electrón de los acarreadores de electrones intersistemas es transferido para reducir los aceptores de electrones finales del lado aceptor del FSI; (C) la producción cuántica para la reducción de los aceptores de electrones finales en el lado aceptor del FSI; (D) centros de reacción reductores de Q_A por Chl antena del FSII; (E) centros de reacción reductores de Q_A por sección cruzada excitada, y (F) el índice de desempeño para la conservación de la energía de los fotones absorbidos por el FSII para la reducción de los aceptores finales del FSI en plantas de *C. annuum*. Los valores corresponden a plantas individuales ($n = 36$).

y con un incremento en el índice de desempeño PI_{total} que expresa el potencial total para la conservación de la energía dependiente de todas las eficiencias para la transducción de energía secuencial. Por lo tanto, se deduce que g_s potencialmente altas están asociadas a un desempeño fotosintético adecuado, basado en la absorción de luz hasta la reducción de los aceptores de electrones finales del FSI. Esta relación puede ser, en parte, promovida por el componente estomático mediado por la fotosíntesis y su respuesta a la luz. Se reconoce que la respuesta estomática a la luz tiene al menos dos componentes. Uno de ellos, independiente de la fotosíntesis, es la respuesta específica a la luz azul que satura a bajas tasas de flujo y está generalmente asociado con la apertura estomática rápida (Zeiger et al. 2002), y se cree que involucra la activación de una H^+ -ATPasa de la membrana plasmática (Kinoshita y Shimazaki 1999; Shimazaki et al. 2007).

El otro componente es una respuesta mediada por la fotosíntesis, satura a altas tasas de flujo de luz similares a aquellas que saturan la fotosíntesis de las células guardia y del mesófilo y es inhibida por la 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea (DCMU, un inhibidor del FSII), lo que indica una dependencia de la fotosíntesis (Messinger et al. 2006) y sugiere que la clorofila es el receptor (Assmann y Shimazaki 1999; Zeiger et al. 2002). Se cree que el segundo componente opera a través del consumo de CO_2 conducido por el mesófilo y reduce la concentración interna de CO_2 (Roelfsema et al. 2002), a la cual el estoma responde (Mott 1988). Además, la apertura estomática es regulada por factores fisiológicos internos y factores ambientales externos, y su respuesta sucede en segundos o en horas. En general, la apertura estomática dependiente de los movimientos de las células guarda es estimulada por la luz (longitud de onda fotosintéticamente activa), concentraciones bajas de CO_2 y humedad alta. Por su parte, el cierre es promovido por la oscuridad, humedad baja, temperaturas altas, así como concentraciones altas de CO_2 y hormonas vegetales, como el ácido abscísico (ABA) (Lawson 2009). En condiciones de déficit de agua, los cambios de g_s dependen de factores hidráulicos (CRA, Ψ y turgencia) en el aparato estomático, incluyendo transporte de agua a través de las membranas, y de los procesos metabólicos, como los relacionados al ABA (Lawlor y Tezara 2009).

El parámetro PI_{total} como herramienta para monitorear el estrés hídrico y programar los riegos

El PI_{total} es uno de los parámetros más sensitivos de la prueba JIP debido a que incorpora varios parámetros que son evaluados a partir de las trazas de fluorescencia y que son la producción cuántica máxima de la fotoquímica primaria (φ_{Po}), la probabilidad para mover un electrón más allá de la Q_A^- (ψ_{Eo}), la probabilidad para reducir un aceptor final de electrones (δ_{Ro}) y la proporción RC/ABS, por lo que cualquier cambio en la traza OJIP se expresa en el PI_{total} (Yusuf et al. 2010). La relación observada entre el PI_{total} y la g_s (Fig. 11F) puede proveer un método para la detección del estrés hídrico. La relación entre el PI_{total} y la g_s fue lineal (Fig. 11F), lo que implica que es un indicador sensible al cierre estomático durante todas las etapas de desarrollo del estrés hídrico en la planta. En plantas de *C. annuum* en condiciones de déficit de agua moderada, por ejemplo, cuando la fotosíntesis es principalmente limitada por la g_s , una recuperación completa de la fotosíntesis debe ocurrir posterior al riego. Se ha demostrado que en plantas de *C. annuum* con conductancias menores a $25 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ la fotosíntesis se recupera dos días después del riego (Campos et al. 2014). Por lo tanto, el monitoreo apropiado del PI_{total} puede ser una herramienta útil para decidir cuándo debe ser aplicado el riego, de manera que las plantas puedan mantenerse dentro de un límite entre un estrés incipiente y el consumo de agua máximo, y hacer así un uso racional del agua de riego. Además, medir y procesar los datos de fluorescencia es una rutina rápida. Las señales de fluorescencia de Chl *a* medidas *in situ* e *in vivo* son registradas en un fluorómetro portátil que hace el análisis adecuado para la aplicación en campo (Maldonado-Rodríguez et al. 2003). Dicha tecnología, que utiliza a la planta como un indicador del requerimiento de agua (antes que al estado hídrico del suelo), tiene el potencial de reducir el uso del agua en la agricultura comercial e incrementar la producción de biomasa por unidad de agua utilizada (Morison et al. 2008).

CONCLUSIONES

La inhibición de la asimilación de CO_2 durante el estrés fue el resultado de limitaciones difusivas en la hoja.

Además, la prueba JIP, a través de la generación de parámetros que describen el transporte fotosintético de electrones, indicó un desacoplamiento de la función del FSII por la desactivación de los centros de reacción, y la disminución consecuente de la capacidad del transporte de electrones hasta la reducción de los aceptores de electrones finales en el FSI. Ciertos parámetros que describen el transporte fotosintético de electrones derivados del aumento rápido de la fluorescencia de Chl *a* (medidos por la prueba JIP) se correlacionaron significativamente con la *A* y la g_s . Por lo tanto, la medición de la fluorescencia de Chl *a* con un instrumento portátil (PEA) es un método adecuado para la detección temprana del estrés hídrico y puede ser una guía útil para la programación de las aplicaciones de riego. Además, el uso de la fluorescencia puede potencializarse debido al desarrollo reciente de sistemas de imágenes de fluorescencia que pueden evaluar el nivel de estrés de las plantas y así controlar los sistemas de riego, lo que permitiría hacer un uso más eficiente del agua en los cultivos.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al CONAHCYT-México por la beca otorgada (número de CVU: 166340) para realizar estudios de Doctorado en Recursos Genéticos y Productividad-Fisiología Vegetal.

LITERATURA CITADA

- Adams-III WW, Demmig-Adams B. 2004. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. En: Papageorgiou GC, Govindjee, editores. Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Dordrecht, Springer. P. 583-604.
- Albert KR, Mikkelsen TN, Michelsen A, Ro-Poulsen H, van der Linden L. 2011. Interactive effects of drought, elevated CO₂ and warming on photosynthetic capacity and photosystem performance in temperate heath plants. *Journal of Plant Physiology* 168: 1550-1561. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.02.011>
- Asada K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 601-639. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601>
- Assmann SM, Shimazaki K. 1999. The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. *Plant Physiology* 119: 809-816. <https://doi.org/10.1104/pp.119.3.809>
- Baker NR. 1991. A possible role for photosystem II in environmental perturbation of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 81: 563-570. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb05101.x>
- Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55: 1607-1621. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh196>
- Boyer JS. 1996. Advances in drought tolerance in plants. *Advances in Agronomy* 56: 187-218.
- Bussotti F, Desotgiu R, Cascio C, Pollastrini M, Gravano E, Gerosa G, Marzuoli R, Nali C, Lorenzini G, Salvatori E, Manes F, Schaub M, Strasser RJ. 2011. Ozone stress in woody plants assessed with chlorophyll *a* fluorescence. A critical reassessment of existing data. *Environmental and Experimental Botany* 73: 19-30. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.022>
- Campos H, Trejo C, Peña-Valdivia CB, García-Nava R, Conde-Martínez FV, Cruz-Ortega MR. 2014. Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery. *Environmental and Experimental Botany* 98: 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.10.015>
- Canaani O, Havaux M. 1990. Evidence for a biological role in photosynthesis for cytochrome b-559—a component of photosystem II reaction center. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87: 9295-9299. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.23.9295>
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
- Filella I, Llusà J, Piñol J, Peñuelas J. 1998. Leaf gas exchange and fluorescence of *Phillyrea latifolia*, *Pistacia lentiscus* and *Quercus ilex* saplings in severe drought and high temperature conditions. *Environmental and Experimental Botany* 39: 213-220. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(97\)00045-2](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(97)00045-2)

- Flexas J, Medrano H. 2002. Energy dissipation in C₃ plants under drought. *Functional Plant Biology* 29: 1209-1215. <https://doi.org/10.1071/fp02015>
- Flexas J, Bota J, Galmés J, Medrano H, Ribas-Carbó M. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: Responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* 127: 343-352. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00621.x>
- Haldimann P, Strasser RJ. 1999. Effects of anaerobiosis as probed by the polyphasic chlorophyll *a* fluorescence rise kinetic in pea (*Pisum sativum* L.). *Photosynthesis Research* 62: 67-83. <https://doi.org/10.1023/A:1006321126009>
- Ilyas M, Nisar M, Khan N, Hazrat A, Khan AH, Hayat K, Fahad S, Khan A, Ullah A. 2021. Drought tolerance strategies in plants: A mechanistic approach. *Journal of Plant Growth Regulation* 40: 926-944. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10174-5>
- Kalaji MH, Goltsev VN, Zuk-Golaszewska K, Zivcak M, Brestic M. 2017. Chlorophyll Fluorescence: Understanding Crop Performance—Basics and Applications. CRC Press. Boca Ratón, Estados Unidos.
- Katona E, Neimanis S, Schönknecht G, Heber U. 1992. Photosystem I-dependent cyclic electron transport is important in controlling photosystem II activity in leaves under conditions of water stress. *Photosynthesis Research* 34: 449-464. <https://doi.org/10.1007/BF00029818>
- Kinoshita T, Shimazaki K-I. 1999. Blue light activates the plasma membrane H⁺-ATPase by phosphorylation of the C-terminus in stomatal guard cells. *The EMBO Journal* 18: 5548-5558. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.20.5548>
- Krause GH, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 313-349. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.001525>
- Lawlor DW, Tezara W. 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: A critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Annals of Botany* 103: 561-579. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn244>
- Lawson T. 2009. Guard cell photosynthesis and stomatal function. *New Phytologist* 181: 13-34. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02685.x>
- Maldonado-Rodríguez R, Pavlov S, Gonzalez A, Oukarroum A, Strasser RJ. 2003. Can machines recognize stress in plants? *Environmental Chemistry Letters* 1: 201-205. <https://doi.org/10.1007/s10311-003-0034-7>
- Messinger SM, Buckley TN, Mott KA. 2006. Evidence for involvement of photosynthetic processes in the stomatal response to CO₂. *Plant Physiology* 140: 771-778. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073676>
- Morison JIL, Baker NR, Mullineaux PM, Davies WJ. 2008. Improving water use in crop production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 639-658. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2175>
- Mott KA. 1988. Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular? *Plant Physiology* 86: 200-203. <https://doi.org/10.1104/pp.86.1.200>
- Neubauer C, Schreiber U. 1987. The polyphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong illumination: I. Saturation characteristics and partial control by the photosystem II acceptor side. *Zeitschrift für Naturforschung C* 42: 1246-1254. <https://doi.org/10.1515/znc-1987-11-1217>
- Oukarroum A, Schansker G, Strasser J. 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl *a* fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiologia Plantarum* 137: 188-199. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01273.x>
- Pailotin G. 1976. Movement of excitations in the photosynthetic domains of photosystem II. *Journal of Theoretical Biology* 58: 237-252. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(76\)90150-8](https://doi.org/10.1016/0022-5193(76)90150-8)
- Parkash V, Singh S. 2020. A review on potential plant-based water stress indicators for vegetable crops. *Sustainability* 12: 3945. <https://doi.org/10.3390/su12103945>
- Roelfsema MRG, Hanstein S, Felle HH, Hedrich R. 2002. CO₂ provides an intermediate link in the red light response of guard cells. *The Plant Journal* 32: 65-75. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01403.x>
- Schansker G, Tóth SZ, Strasser RJ. 2005. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl *a* fluorescence rise OJIP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1706: 250-261. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.11.006>
- Schansker G, Srivastava A, Govindjee, Strasser RJ. 2003. Characterization of the 820-nm transmission signal paralleling the chlorophyll *a* fluorescence rise (OJIP) in pea leaves. *Functional Plant Biology* 30: 785-796. <https://doi.org/10.1071/fp03032>
- Schreiber U, Neubauer C, Klughammer C. 1989. Devices and methods for room-temperature fluorescence

- analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 323: 241-251. <https://doi.org/10.1098/rstb.1989.0007>
- Shangguan ZP, Shao MA, Dyckmans J. 2000. Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat. *Journal of Plant Physiology* 156: 46-51. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80271-0](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80271-0)
- Shao R, Wang K, Shangguan Z. 2010. Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: Probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. *Journal of Plant Physiology* 167: 472-479. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.10.020>
- Shimazaki K-I, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T. 2007. Light regulation of stomatal movements. *Annual Review of Plant Biology* 58: 219-247. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105434>
- Stirbet A, Govindjee. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 104: 236-257. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.12.010>
- Strasser RJ, Srivastava A, Govindjee. 1995. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and Photobiology* 61: 32-42. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1995.tb09240.x>
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. En: Papageorgiou GC, Govindjee, editores. *Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Dordrecht, Springer. P. 321-362.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Qiang S, Goltsev V. 2010. Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* 1797: 1313-1326. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.03.008>
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW. 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* 401: 914-917. <https://doi.org/10.1038/44842>
- Tóth SZ, Puthur JT, Garab G. 2008. Naturally occurring alternative electron donors of photosystem II. En: Allen JF, Gantt E, Golbeck JH, Osmond B, editores. *Photosynthesis. Energy from the Sun*. Dordrecht, Springer. P. 691-695.
- Tsimilli-Michael M. 2019. Revisiting JIP-test: An educative review on concepts, assumptions, approximations, definitions and terminology. *Photosynthetica* 58(SI): 275-292. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.150>
- Tsimilli-Michael M, Strasser RJ. 2008. *In vivo* assessment of stress impact on plant's vitality: Applications in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plant. En: Varma A, editor. *Mycorrhiza: Genetics and Molecular Biology, Eco-function, Biotechnology, Eco-physiology, and Structure and Systematics*. Berlín, Springer. P. 679-703.
- Van Heerden PDR, Tsimilli-Michael M, Krüger GHJ, Strasser RJ. 2003. Dark chilling effects on soybean genotypes during vegetative development: Parallel studies of CO₂ assimilation, chlorophyll *a* fluorescence kinetics O-J-I-P and nitrogen fixation. *Physiologia Plantarum* 117: 476-491. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00056.x>
- Van Heerden PDR, Swanepoel JW, Krüger GHJ. 2007. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C₃-mode CO₂ assimilation. *Environmental and Experimental Botany* 61: 124-136. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.005>
- Wu J, Neimanis S, Heber U. 1991. Photorespiration is more effective than the Mehler reaction in protecting the photosynthetic apparatus against photoinhibition. *Botanica Acta* 104: 283-291. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1991.tb00231.x>
- Yusuf MA, Kumar D, Rajwanshi R, Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Govindjee, Sarin NB. 2010. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* 1797: 1428-1438. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.02.002>
- Zeiger E, Talbott LD, Frechilla S, Srivastava A, Zhu J. 2002. The guard cell chloroplast: A perspective for the twenty-first century. *New Phytologist* 153: 415-424. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.NPH328.doc.x>