

EFFECTO DEL NITRÓGENO Y LA IRRADIANZA EN LA EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA DEL ANAMÚ *PETIVERIA ALLIACEA* (PHYTOLACCACEAE)

por

Juan Manuel Pérez Asseff¹, Enrique Javier Peña Salamanca¹ & Celina Torres González¹

Resumen

Pérez Asseff, J. M., E. J. Peña & C. Torres: Efecto del nitrógeno y la irradiación en la eficiencia fotosintética del anamú *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. **31** (118): 49-55, 2007. ISSN 0370-3908.

El presente estudio evaluó el efecto del nitrógeno y la irradiación sobre la eficiencia fotosintética (Fv/Fm) de *Petiveria alliacea*. Los resultados mostraron que la fluorescencia disminuyó al aumentar el nivel de irradiación y al disminuir la concentración de nitrógeno. La eficiencia fotosintética fue significativamente mayor en hojas de plantas con mayor disponibilidad de nitrógeno y en ambientes parcialmente sombreados. Las curvas de luz (F-I) en función de la tasa de transporte de electrones (ETR), mostraron que las plantas bajo sombra y expuestas a bajas concentraciones de nitrógeno fueron más susceptibles a bloqueos en su ETR.

Palabras clave: Fluorescencia, fotosíntesis, estrés, nitrógeno, irradiación.

Abstract

The effect of nitrogen availability and different light regimes on the chlorophyll fluorescence and photosynthetic efficiency were evaluated in plants of Anamú (*Petiveria alliacea*, Phytolaccaceae). Chl-fluorescence in plants responded negatively with increased irradiance and lower nitrogen supply. Photochemical efficiency of photosystem II (Fv/Fm) was greater in shaded plants as well as in treatments with higher nitrogen supply. Photosynthesis-irradiance curves (P-I) expressed as electron transport rate (ETR) was higher in shaded plants as well as in plants exposed to lower nitrogen supply.

Key words: Fluorescence, photosynthesis, stress, nitrogen, irradiance.

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle A.A. 25360 Cali, Colombia. Correo electrónico: enripena@univalle.edu.co

Introducción

La evaluación de la fotosíntesis y los efectos inducidos por estrés son importantes en el análisis del desempeño de las plantas bajo condiciones naturales (Bilger, *et al.*, 1995). Se define estrés como cualquier condición ambiental que es capaz de causar cambios biológicos dañinos (Larcher, 1995; Poorter & Pérez-Soba, 2001). Algunos de los factores más comunes, sobre todo en el trópico, que producen estrés en las plantas ya sea por deficiencia o exceso, son el Nitrógeno y la irradiación lumínica. El estrés lumínico no resulta de una intensa irradiación por sí mismo, sino más bien de una absorción de luz excesiva en comparación con la utilizada en la fotosíntesis. Si tanto los límites de tolerancia como la capacidad adaptativa son excedidos, el estrés puede ocasionar daños permanentes e incluso la muerte de la planta (Larcher, 1995; Poorter, 2000; Peña *et al.*, 1999; Peña, 2004). Las plantas absorben principalmente dos formas de Nitrógeno: nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+). Las plantas que contienen una cantidad tal de nitrógeno que limita su crecimiento muestran síntomas de deficiencia que consisten en clorosis general, especialmente en las hojas más antiguas (Salisbury & Ross, 1994; Horton *et al.*, 1996; Toth *et al.*, 2002). La exposición de las plantas a altos niveles de irradiación, mayores a las del punto de saturación lumínica, produce varios efectos, incluyendo la adaptación del aparato fotosintético, conocidas como plantas resistentes al sol, las cuales exhiben características adaptativas tales como, la depoxidación de violaxantina a zeaxantina, el incremento en la emisión de calor y la fotoinhibición del aparato fotosintético (Lichtenthaler & Burkart, 1999; Peña, 1998; Cechin & De Fátima, 2004).

La fluorescencia es una de las técnicas más recientemente utilizadas para evaluar el efecto de un tipo particular de estrés sobre la actividad fisiológica de la planta (Lichtenthaler & Burkart, 1999; Del & Toivonen, 2003). La fluorescencia de la clorofila es la producción de luz que acompaña a la rápida disminución en la energía de los electrones que se encuentran en estado excitado de la clorofila. En una planta expuesta a una fuente de energía lumínica los electrones de los pigmentos son excitados por la energía incidente. Esta energía se puede utilizar para fotosíntesis o puede perderse por disipación calorífica o fluorescencia o las dos (Krause & Weis, 1991; Maxwell & Jonson, 2000). Esta técnica evalúa la fluorescencia fotosintética usando pulsos de luz fuerte (también llamados pulsos de saturación) permitiendo análisis extremadamente detallados sobre la eficiencia fotosintética *in situ*, evaluando las alteraciones del aparato fotosintético en función del transporte de electrones (ETR) y se basa en el hecho que cuando el transporte de electrones es bloqueado por algún factor

de estrés, a nivel del sitio de oxidación del agua en el PSII, los niveles de fluorescencia disminuyen (Bilger *et al.*, 1995; Gemel *et al.*, 1997; Porter, 2000).

La eficiencia fotosintética en plantas (Fv/Fm) refleja la eficiencia cuántica potencial del PSII y se usa como un indicador sensitivo de la eficiencia fotosintética de las plantas (Kooten & Snel, 1990; Del & Toivonen, 2003). La eficiencia cuántica es regulada por mecanismos de control fisiológico que optimizan el desempeño de la planta y proveen protección de los efectos dañinos de luz excesiva (Krall & Gerald, 1992; Horton *et al.*, 1996). Cerca del 3% de la energía transferida a los dos fotosistemas se pierde como emisión fluorescente (Gemel *et al.*, 1997; Del & Toivonen, 2003).

Petiveria alliacea L. conocida como Anamú, forma parte del folclor medicinal en varios países de Latinoamérica. Sus usos como analgésico y contra la sinusitis son los más conocidos, aunque también se usa como anti-pirético, vermífugo, analgésico y anti-inflamatorio. Igualmente, para acelerar y facilitar el parto y para cuidar los dientes contra las caries, fortalecer las encías y curar lesiones como llagas y maltratos por prótesis en la cavidad oral (Pérez, 1996).

El propósito del presente trabajo es evaluar el efecto del estrés lumínico y del nitrógeno en plantas de Anamú expuestas a diferentes niveles de irradiación y concentraciones de nitrógeno, utilizando como indicador fisiológico la eficiencia fotosintética (Fv/Fm). Igualmente, estimar las curvas de Fotosíntesis – Irradiación (F-I) para las plantas expuestas a diferentes tratamientos de irradiación y Nitrógeno, en función de su tasa de transporte de electrones (ETR).

Materiales y Métodos

Sinopsis de la especie: el Anamú *Petiveria alliacea* pertenece a la familia Phytolaccaceae (Orden Caryophyllales), es una planta herbácea que puede alcanzar de 0.50 a 1 m de altura. Se caracteriza por tener tallo delgado; hojas alternas, alargadas, de color verde oscuro con pequeños puntos translúcidos, con 8 a 14 cm de largo y 3 a 5 cm de ancho; flores pequeñas y blancas; espigas tenues y alargadas; frutos consistentes en una baya con casillas, pequeños y rojos. Se distribuye en potreros de climas cálidos desde cero hasta los 1 000 m s n m de los departamentos de Antioquia, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Magdalena y Tolima (Pérez, 1996).

Condiciones experimentales: se obtuvieron 45 individuos adultos a partir de una población natural de *P.*

alliacea, ubicada en la estación experimental de Biología, en la Universidad del Valle. Se empleó el sistema de cultivo hidropónico abierto o ferti-riego para la aclimatación y mantenimiento de especímenes en la estación experimental de Biología. Se trabajaron tres niveles de

irradiación utilizando diferente número de mallas polisombra y anejo acrílico. Las plantas expuestas a 100% de irradiación no tenían mallas sobre ellas, mientras que las de 20.5% y 2.6% de la irradiación solar plena, tenían 3 y 6 mallas respectivamente. La irradiación máxima esti-

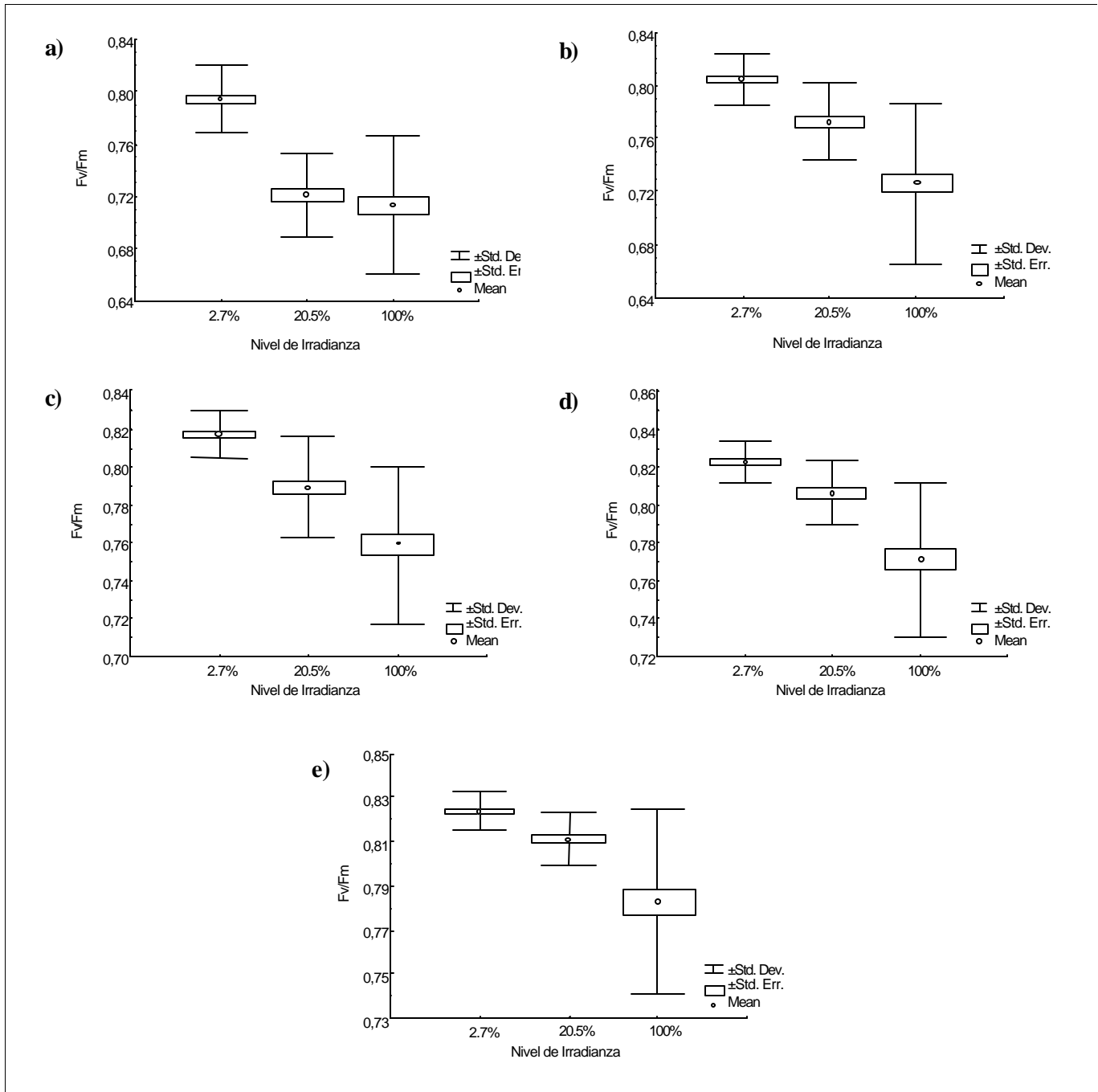


Figura 1. Comportamiento de la eficiencia fotosintética (Fv/Fm) en función de la irradiación en plantas de *P. alliacea*. a) 0 ppm de nitrógeno, b) 56 ppm de nitrógeno, c) 112 ppm de nitrógeno, d) 224 ppm de nitrógeno, y e) 448 ppm de nitrógeno.

mada se determinó por mediciones realizadas al medio día con un Cuantómetro de luz modelo datalogger (Licor Inc.). Las concentraciones de nitrógeno utilizadas (0ppm, 56ppm, 112ppm, 224ppm y 448ppm) se prepararon en la solución de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) modificada por Johnson *et al.*, (1957). Aproximadamente 90 mL de cada solución fue aplicada por goteo utilizando bolsas de suero. La aclimatación a los tratamientos se realizó por un periodo de 45 días.

Mediciones fisiológicas: los valores de la eficiencia fotosintética (Fv/Fm) y la tasa de transporte (ETR) se determinaron utilizando un fluorómetro portátil Modelo Mini-PAM-2100 marca WALZ. Las mediciones de fluorescencia se hicieron por triplicado en 6 hojas por planta para un total de 18 datos por planta y 54 por tratamiento (n = 810). Las mediciones se realizaron en la madrugada, entre las 5:30 y 6:00 horas, con el fin de permitir la adaptación de las plantas a la oscuridad, y garantizar que todos los centros de reacción del PSII estuviesen abiertos (Krause & Weis, 1991). Se realizaron curvas fotosíntesis-irradiación (F-I) en función del ETR para cada tratamiento, incrementando la intensidad lumínica (PAR) cada 10 segundos (10, 16, 24, 38, 55, 81, 122 y 183 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Diseño experimental: se realizó un diseño completamente al azar, factorial de 3x5 y para el análisis estadístico se utilizó el programa STATISTICA, versión 5.1 de 1997, con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$).

Resultados

Los valores de eficiencia fotosintética (Fv/Fm) promedio en *P. alliacea* presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$), dependiendo de la concentración de Nitrógeno y la irradiación. El rango de valores de Fv/Fm promedio osciló entre 0.71 y 0.83, los cuales estuvieron en el rango de los valores reportados para la población natural de 0.81. Las plantas de *P. alliacea* aclimatadas a diferentes niveles de irradiación presentaron diferencias

Tabla 1. Eficiencia fotosintética promedio en *P. alliacea* para las diferentes concentraciones de Nitrógeno y niveles de irradiación.

Irradianza	Concentración de Nitrógeno				
	0 ppm	56 ppm	112 ppm	224 ppm	448 ppm
100%	0,71	0,73	0,76	0,77	0,78
20.5%	0,72	0,77	0,79	0,81	0,81
2.6%	0,79	0,80	0,82	0,82	0,82
Pn 7%	0,82				

significativas en la eficiencia fotosintética ($p < 0.05$), disminuyendo significativamente con el aumento en el nivel de irradiación ($p < 0.01$) excepto las plantas sin Nitrógeno aclimatadas a 20.5% y 100% de irradiación ($p < 0.05$) (Figura 1).

Las plantas de *P. alliacea* presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la eficiencia fotosintética (Fv/Fm), dependiendo de la concentración de Nitrógeno (Figura 2). No se observaron diferencias significativas en los valores de eficiencia fotosintética de las plantas con una disponibilidad de Nitrógeno entre 224 ppm y 448 ppm ($p < 0.05$). La tendencia general de Fv/Fm fue aumentar a medida que aumentó la concentración de Nitrógeno, con una correlación de 0.51 ($p < 0.01$).

La eficiencia fotosintética (Fv/Fm) de las plantas aclimatadas a luz solar plena (100%) presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) dependiendo de la concentración de Nitrógeno (Figura 2). Estas presentaron valores promedio de eficiencia fotosintética por debajo de 0.8 (Figura 3). Todas las plantas aclimatadas a 2.6% de irradiación presentaron valores Fv/Fm superiores a 0.8 excepto las que carecían de Nitrógeno (0 ppm, Fv/Fm = 0.79), mientras que las aclimatadas a 20.5% solo presentaron valores de Fv/Fm cercanos a 0.8 cuando la disponibilidad de Nitrógeno fue de 224ppm y 448ppm. La figura 4 ilustra las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las curvas F-I de las plantas aclimatadas a los diferentes tratamientos. Las plantas aclimatadas a bajo nivel de irradiación (2.7 %) con una concentración de Nitrógeno entre 112 – 448 ppm presentaron disminuciones en la ETR, al incrementar la irradiación (Figura 4), en contraste con los valores de Fv/Fm observados en estos mismos tratamientos de nitrógeno.

Discusión

La disminución de la Eficiencia fotosintética (Fv/Fm) en función de la irradiación, se toma usualmente como indicador de alteración en el aparato fotosintético, a nivel de su conversión cuántica y transporte de electrones (Lichtenthaler & Burkart, 1999), resultando una disminución de la actividad fotosintética en la planta. En varios grupos de plantas, la tendencia general es una disminución de la actividad fotosintética cuando son aclimatadas a plena irradiación (Krause, 1988; He *et al.*, 1996; Peña *et al.*, 1999; Porter, 2000). Dicha disminución en los valores de Fv/Fm se debe probablemente a procesos de protección de disipación calorífica (Porter, 2000). Esta tendencia se mantuvo en plantas de *P. alliacea* aclimatadas a luz solar plena (100%) donde valores de Fv/Fm fue-

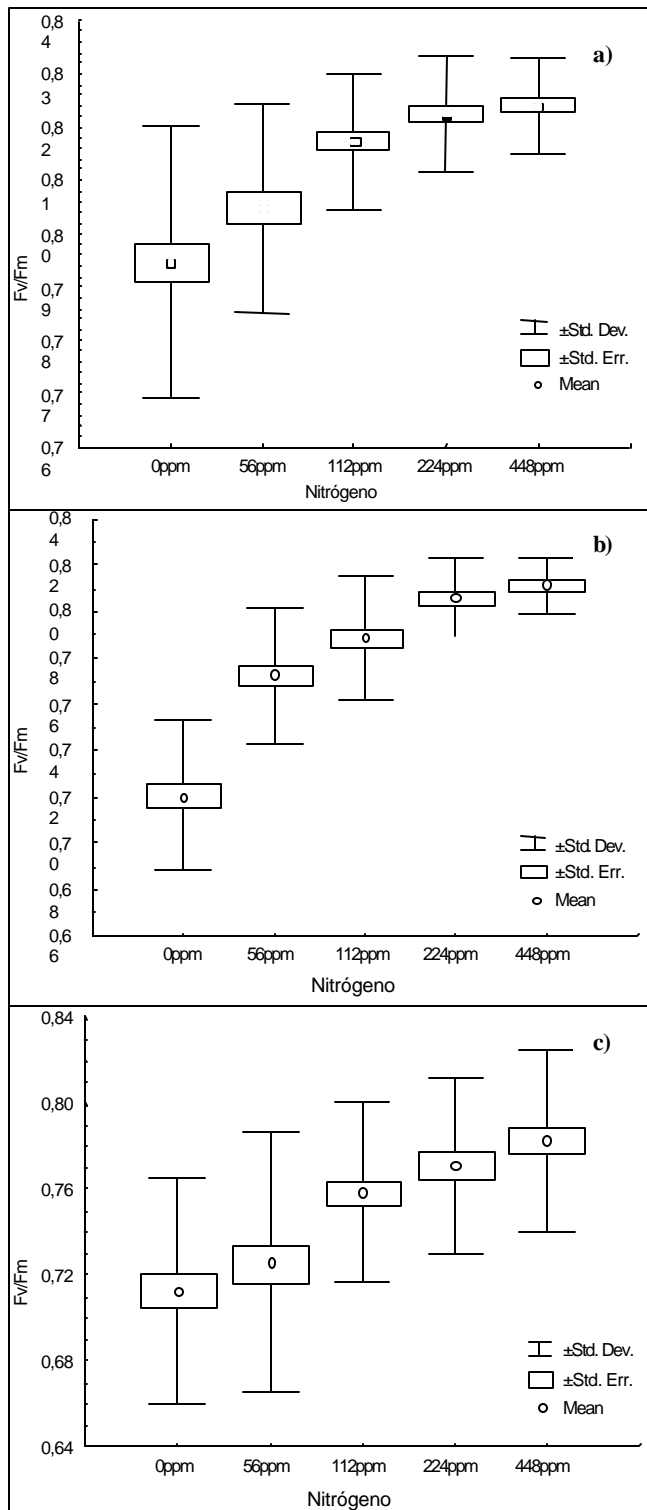


Figura 2. Comportamiento de la eficiencia fotosintética (Fv/Fm) en función del nitrógeno en plantas de *P. alliaceae* aclimatadas a niveles de irradiancia a) 2.7% de luz solar plena, b) 20.5% de luz solar plena y c) 100% de luz solar plena.

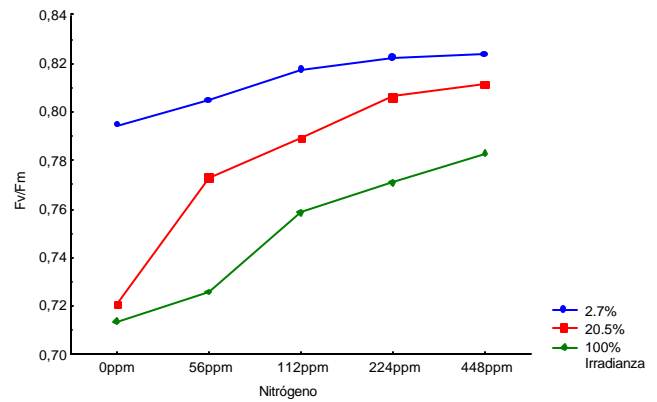


Figura 3. Comportamiento de la eficiencia fotosintética en función de la interacción entre diferentes niveles de irradiancia y nitrógeno.

ron inferiores a 0.8, indicando la preferencia de *P. alliaceae* por ambientes sombreados.

Los mayores valores de eficiencia fotosintética (Fv/Fm) en función del nitrógeno coincidieron con la concentración de nitrógeno a 224 ppm, valor sugerido como la concentración óptima para los valores máximos de Fv/Fm. La eficiencia fotosintética (Fv/Fm) en función de la interacción entre la irradiancia y el Nitrógeno, se afecta cuando una planta en estrés es expuesta a altas intensidades de luz; se ha sugerido que los daños en los centros de reacción pueden ser reparados mediante la síntesis de proteína D1. Cuando la tasa de daño es equivalente a la tasa de reparación, no se observa disminución alguna en la eficiencia fotosintética (Barber, 1994; Porter, 2000). Los resultados mostraron que la eficiencia fotosintética disminuye debido a la disminución en la disponibilidad de Nitrógeno, demostrando por lo tanto la importancia del Nitrógeno para la síntesis de pigmentos y proteínas estructurales del aparato fotosintético en esta especie. Todas las plantas de sombra, incluyendo fanerógamas (Coth et al., 2002) y no vasculares (Peña, 2004) son sensibles a la luz (fotolabiles) y pueden sufrir daños incluso con exposiciones muy breves a irradiación moderada. Los resultados indicaron que entre mayor es el nivel de irradiancia, mayor disponibilidad de Nitrógeno requiere las plantas de Anamú para reparar los daños ocasionados por exceso lumínico y así alcanzar valores normales de Fv/Fm.

El patrón de las curvas ETR, señala que las plantas con menor disponibilidad de Nitrógeno son más susceptibles a presentar bloqueos en su tasa de transporte de electrones (ETR), en especial al incrementar los niveles de irradiancia (PAR). Las plantas aclimatadas a irradiancia plena (100%), con alta disponibilidad de Nitrógeno, pre-

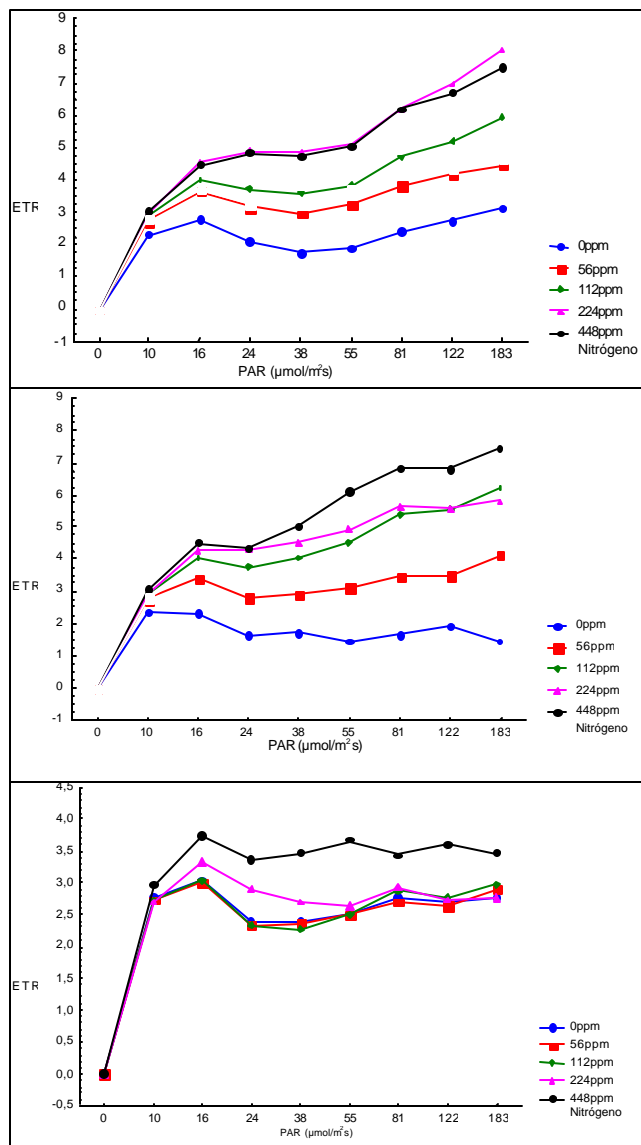


Figura 4. Curvas Fotosíntesis-Irradianza (F-I) en función de la ETR para los tratamientos con diferentes niveles de irradianza: a) Nivel alto (100% de luz solar plena), b) Nivel intermedio (20.5% de luz solar plena), y c) Nivel bajo (2.7% de luz solar plena).

sentaron sin embargo valores altos de ETR lo que se puede concluir que el flujo de electrones fotosintéticos en el Anamú se puede particionar entre la fotosíntesis y la fotorrespiración, esta última como un mecanismo para protegerse de la fotoinhibición (Krause, 1988; Toth *et al.*, 2002; Cechin & De Fátima, 2004). Para evaluar de manera exacta la cantidad de energía fotoquímica que utiliza la planta, ya sea para la asimilación de CO_2 o para la producción de O_2 , se requiere realizar mediciones simultá-

neas de fluorescencia y fijación de CO_2 en una cámara de intercambio de gases (Krall & Edwards, 1992; Del & Toivonen, 2003). Se sugiere por lo tanto que el comportamiento observado de las curvas ETR en los tratamientos, es el resultado de mecanismos adaptativos de la planta para la captura de la luz a alta irradianza. Un aumento moderado de irradianza puede reflejarse en una disminución de los valores de F_v/F_m , lo que puede traducirse en una respuesta de fotoinhibición.

De acuerdo a los resultados observados se puede concluir que el estrés de alta irradianza en las plantas afecta de manera significativa la eficiencia fotosintética (F_v/F_m). Igualmente, las plantas expuestas al efecto combinado de estrés con bajos niveles de nitrógeno, influye en las variaciones de la tasa de transporte de electrones (ETR) en plantas del Anamú. Por el contrario, plantas bajo sombra (2.7% y 20.5% de irradianza) y con una disponibilidad relativamente alta de nitrógeno (224ppm), son menos susceptibles de disminuir la eficiencia fotosintética (F_v/F_m) y por ende su tasa de transporte de electrones (ETR) en el sistema fotoquímico de la planta.

Agradecimientos

El presente estudio fue realizado en el marco del proyecto de investigación: "Metabolic responses of macrophytes exposed to environmental stress" Código 1106-09-11246, cofinanciado por Colciencias. Los autores agradecen al Departamento de Biología de la Universidad del Valle, por su apoyo logístico, en especial al Señor Dagoberto Sinisterra, jardinero de la Estación Experimental de Biología en Cali, y a la Bióloga Sandra Yamile Pulido, del Grupo de Investigación en Biología Vegetal Aplicada de la Universidad del Valle, por su colaboración en las mediciones fisiológicas.

Bibliografía

- Barber, J. 1994. Molecular basis of the vulnerability of photosystem II to damage by light. *Australian Journal of Plant Physiology*, **22**: 201-208.
- Bilger, W., U. Schreiber & M. Bock. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia*, **102**: 425-432.
- Cechin, I. & T. De Fátima. 2004. Effect of nitrogen supplied on growth and photosynthesis of sunflower plants grown in the greenhouse. *Plant Science* **166**: 1379-1385.
- Del, J & P. Toivonen (eds). 2003. *Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology*. Kluwer academic. N.J., USA.
- Gemel, J., B. Waters-Earhart, M. R. Ellersieck, A. Asfaw, G. F. Krause, V. Puri & W. R. Lower. 1997. *Photosynthetic electron*

- transport as a bioassay. Págs 209-224 en: Wang, W., J. W. Gorsuch & J. S. Hughes. *Plants for Environmental Studies*. CRC Press LLC. New York.
- He, J., C. W. Chee & C. J Goh.** 1996. "Photoinhibition" of *Heliconia* under natural tropical natural conditions: the importance of leaf orientation for light interception and leaf temperature. *Plant, Cell and Environment*. **19**: 1238-1248.
- Hoagland, D.R., D.I. Arnon.** 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Station Circ.* **347**: 1-32.
- Horton, P., A. V. Ruban & R. G. Walters.** 1996. Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. **47**: 655 - 684.
- Johnson, C.M., P. R. Stout, T.C. Broyer, A. B. Carlton.** 1957. Comparative chlorine requirements of different plant species. *Plant Soil*. **8**: 337-353.
- Kooten, V.O. & J. F. Snel.** 1990. The use of Chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research* **25**: 147-150.
- Krall, J. P. & G. Edwards.** 1992. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiologia Plantarum* **86**: 180-187.
- Krause, G. H.** 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* **74**: 566-574.
- _____ & **E. Weis.** 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annals Review Plant Physiology* **26**: 125-134.
- Larcher, W.** 1995. *Physiological Plant Ecology*. 3^{ra} Edición. Springer (Ed). Alemania.
- Lichtenthaler, H. K. & S. Burkart.** 1999. Photosynthesis and high light stress. *Bulgarian Journal Plant Physiology* **25** (3-4): 3-16
- Maxwell K. & Johnson, G.N.** 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. Review Article. *Journal of Experimental Botany*, Vol. **51** (345): 659-668.
- Peña, E. J.** 1998. Physiological ecology of mangrove associated macroalgae in a tropical estuary. Dissertation. University of South Carolina, USA.
- _____, 2004. Ecofisiología de algas bénticas asociadas a manglar. En H. M. Cabrera (Ed) *Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*. Pontificia Universidad de Valparaíso, Chile.
- _____, **R. Zingmark & C. Nietch.** 1999. Comparative photosynthesis of two species of intertidal epiphytic macroalgae on mangrove roots during submersion and emersion. *Journal Phycology* **35**: 1206-1214
- Pérez, E.** 1996. *Plantas Útiles de Colombia*, 5^a ed. fondo FEN, Bogotá (Colombia).
- Poorter, H. N.** 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of Light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal Plant Physiology* **27**: 595-607.
- _____ & **M. Perez-Soba.** 2001. The growth response of plants to elevated CO₂ under non-optimal environmental conditions. *Oecologia* **129**: 1-20.
- Salisbury, F. B. & C. W. Ross.** 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericana. México.
- Tóth, V. R., I. Meszaros, S. Verez & J. Nagy.** 2002. Effects of the available nitrogen on the photosynthetic activity and xanthophyll cycle of maize in field. *Journal Plant Physiology* **159**: 627-634.

Recibido el 9 de junio de 2006

Aceptado para su publicación el 26 de marzo de 2007