

ARTICULO ORIGINAL

Eficiencia fotoquímica máxima e índice de potencial fotosintético en plantas de melón (*cucumis melo*) tratadas con bajas temperaturas

Rodriguez Torressi, A. O. ¹; Yonny, M. ²; Nazareno, M. ²; Galmarini, C. ³; Bouzo, C.A. ⁴

¹EAA-INTA Santiago del Estero, producción vegetal, sección hortícola, Jujuy N° 850, Código Postal 4200, rodriguez.ariel@inta.gob.ar.

²Universidad Nacional de Santiago del Estero, Laboratorio de antioxidantes y procesos oxidativos.

³EAA, La Consulta (Mendoza), Mejoramiento Genético,

⁴Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Agrarias, Fisiología Vegetal.

RESUMEN

La fluorescencia de la clorofila se utiliza para determinar la eficiencia fotoquímica de las plantas ante diferentes condiciones ambientales. Existen índices como Fv/Fm y PI abs que son indicadores indirectos del rendimiento cuántico del fotosistema II (PSII). El objetivo de este trabajo fue determinar la eficiencia fotoquímica máxima del PSII y el potencial fotosintético en plantas sometidas a bajas temperaturas. La experiencia se llevó a cabo en la EEA, Santiago del Estero y en la Facultad de Agronomía y Agroindustria, UNSE. Los tratamientos consistieron en plantas de melón (cv. Sweet Ball) sin estímulo de frío (testigo) y plantas con estímulo de frío durante la noche con rangos térmicos de 0°C a 10°C y de -3°C a 0°C. Se evaluó la eficiencia fotoquímica máxima (Fv/Fm), índice de potencial fotosintético (PI abs) y concentración de malondialdehído (MDA) en hoja. En las plantas estimuladas con frío se obtuvo menor Fv/Fm, PI abs e incrementos en la concentración de MDA.

Palabras claves: **Cucumis melo sp.; Fluorescencia; Malondialdehído.**

SUMMARY**Maximum efficiency photochemistry and potential photosynthetic index in melon plants (*Cucumis melo*) treated with low temperatures**

Measurements of the chlorophyll fluorescence is used to examine the photochemical efficiency of plants a wide range of environmental conditions. The quantum yield of non-cyclic electron transport is directly proportional to the efficiency of excitation of the reaction centers of Photosystem II (PS II) and can be determined by indexes such as Fv / Fm and PI abs. The aim of this study was to determine the maximum photochemical efficiency of PSII and photosynthetic potential in plants treated with low temperatures. The experiment was conducted at the Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA y la Facultad de Agronomía y Agroindustria de la Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE). Treatments consisted of melon plants (cv. Sweet Ball) without (control) and with low night tempera-

tures between 10°C and 0°C to -3°C to 0°C. Photochemical efficiency (Fv / Fm), photosynthetic potential index (PI abs) and in turn MDA concentration increased.

Key words: *Cucumis melo sp.*; **Flourescence**; **Malondialdehyde (MDA)**.

INTRODUCCIÓN

La energía lumínica captada por las hojas de las plantas sigue tres procesos, que se generan de forma simultánea: el fotoquímico de la fotosíntesis, la disipación como calor y la re-emisión como luz de baja energía o fluorescencia (Moreno *et al.*, 2008). Estos tres procesos ocurren, de tal manera que el incremento en la eficiencia de uno de ellos, resulta en la disminución de los otros dos. Por este motivo, al medir el rendimiento de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información acerca de los cambios en la eficiencia fotoquímica y de la disipación de calor (Maxwell & Johnson, 2000). Este fenómeno puede ser medido mediante un fluorímetro, el que permite discriminar entre un nivel mínimo de fluorescencia (Fo) y un nivel máximo (Fm), valor éste que representa la anulación del proceso fotoquímico.

Ante condiciones adversas debida a estrés, se modifican las proporciones del reparto de energía entre estos procesos incrementándose la fluorescencia (Moreno *et al.*, 2008). La diferencia entre los niveles anteriores de Fo y Fm, determina la fluorescencia variable (Fv). Considerando estos parámetros entre sí, la relación entre Fv/Fm permite establecer situaciones de plantas no estresadas cuando su valor se encuentra entre 0,75 y 0,85 (Bjorman & Demmig, 1987). Esta relación y el índice de potencial fotosintético (PI abs) son por lo tanto indicadores indirectos del rendimiento cuántico del fotosistema II (PSII).

Por otra parte, las condiciones de estrés incrementan la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Gulen *et al.*, 2008). Estas moléculas reaccionan con los lípidos de las membranas a través de un proceso conocido como peroxidación lipídica. El grado de avance de esta reacción puede determinarse a partir de la cuantificación de los productos generados por ella, siendo uno de los más estudiados el malondialdehído (MDA) (Esterbauer & Cheeseman, 1990).

Como hipótesis de trabajo se estableció que en melón, las bajas temperaturas afectan la cadena transportadora de electrones, aumentando la fluorescencia. La baja temperatura, produce daños reversibles e irreversibles, incrementando la concentración de malondialdehído (MDA).

El objetivo de este trabajo fue determinar la eficiencia fotoquímica máxima del PSII y el potencial fotosintético en plantas sometidas a bajas temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó utilizando semillas de la cv. Sweet Ball (Rijkzwaan), las que fueron sembradas en macetas de 10 L rellenas con tierra y mantillo en una proporción de 75:25 (v/v). Cuando las plantas tuvieron entre 5 y 6 hojas verdaderas fueron tratadas artificialmente en ambientes con temperaturas bajas. Mediante estos tratamientos se simuló las condiciones ambientales que normalmente afectan a las plantas de reciente trasplante en sistemas semiforzado al final de la estación invernal. Los tratamientos con frío fueron realizados introduciendo las plantas en cámara frigorífica con temperatura controlada durante el período nocturno. Luego, coincidente con el final de cada nictoperíodo, las mismas fueron manualmente retiradas y colocadas en condiciones normales de temperatura ambiente (25 a 30 °C), hasta la noche del día siguiente.

Los tratamientos con frío consistieron en tratar a las plantas a cuatro noches con bajas temperatura: la primera noche con temperatura entre 0° y 10°C (día 2) y las siguientes con temperatura entre 0° y -3°C, con exposiciones de una (día 4) y dos noches (día 7). Se utilizó un tratamiento control en donde las plantas permanecieron a temperatura ambiente entre 25 y 30 °C. Las plantas con estímulo de frío (CFe) fueron extraídas de la cámara coincidente con el final del nictoperíodo y situadas en las mismas condiciones ambientales que el tratamiento control. Luego, al final de cada día nuevamente fueron introducidas coincidentes con el inicio del período nocturno en la cámara de frío. En cada tratamiento se tuvieron dos repeticiones, consistiendo cada repetición o unidad experimental de cinco plantas.

Se midió la eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m) y el índice de potencial fotosintético (PI abs) por intermedio de un fluorímetro *Plant Efficiency Analyser* (PEA, Hansatech Instruments, UK). Las mediciones se realizaron durante la mañana (09:00 AM), con un período de adaptación de 30 minutos. La concentración de malondialdehído (MDA) se determinó por intermedio de la técnica utilizada por Djanaguiraman *et al.*, (2010). A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza y comparación de media, con significancias del 5 y 15%, utilizándose el programa Infostat®.

RESULTADOS

Tanto la eficiencia fotoquímica máxima del PSII (F_v/F_m) como el índice de potencial fotosintético (PI abs), disminuyeron en los tratamientos con bajas temperaturas ([Cuadro 1](#), día 2), recuperándose luego de restablecida las condiciones normales de temperatura ([Cuadro 1](#), día 3). Esto sucedió en el caso que las plantas estuvieron sometidas a temperaturas menores a 10 °C pero mayores a 0 °C ([Cuadro 1](#), días 2 y 3).

Cuadro 1. Eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m), índice de potencia fotosintética (PI abs), fluorescencia inicial (F_o), fluorescencia máxima (F_m) y concentración de malondialdehído (MDA) en tratamientos con y sin estímulo de frío. Días 2, 4 y 7: plantas luego del estímulo de frío (CFe) de 0 a 10°C, 0 a -3°C durante una noche y 0 a -3°C durante dos noches de exposición respectivamente. Días 1, 3 y 5: plantas posterior al estímulo de frío y colocadas a temperatura ambiente. El testigo (T) siempre a

temperatura ambiente (25 a 30°C). Comparación de media por intermedio del test de LSFisher con significancia del 5%.

| | | Fv/Fm | PI abs | Fo | Fm | MDA (ug MDA/g PF) |
|-------|-----|--------|--------|--------|---------|----------------------|
| día 1 | CFs | 0,82 | 5,60 | 4697 | 25867 | - |
| | T | 0,83 | 7,81 | 4783 | 27610 | - |
| día 2 | CFe | 0,70 b | 1,84 b | 5463 a | 18007 b | 2,26 a (a) |
| | T | 0,82 a | 4,12 a | 4770 b | 27651 a | 1,86 a (b) |
| día 3 | CFs | 0,80 | 2,24 | 5236 | 27164 | - |
| | T | 0,80 | 1,65 | 5439 | 26794 | - |
| día 4 | CFe | 0,68 b | 0,36 b | 5449 a | 16001 b | - |
| | T | 0,84 a | 7,19 a | 4460 b | 28570 a | - |
| día 5 | CFs | 0,84 | 6,56 | 4382 | 27672 | - |
| | T | 0,85 | 7,55 | 4586 | 29778 | - |
| día 7 | CFe | 0,47 b | 0,00 b | 3612 b | 6821 b | muertas |
| | T | 0,82 a | 4,38 a | 4987 a | 27205 a | - |

Nota: CFe: plantas estimuladas con frío; CFs: plantas posterior al estímulo con frío; T: testigo. Significancia del 5% y entre paréntesis 15%.

Posteriormente, se observó un comportamiento similar cuando las plantas fueron sometidas a condiciones de temperaturas menores a 0 °C durante una noche de exposición, al medir la eficiencia fotoquímica máxima (Fv/Fm) ([Cuadro 1](#), día 4). Sin embargo, en este mismo tratamiento el índice de potencial fotosintético (PI abs) presentó una disminución mayor que cuando las plantas tuvieron temperaturas mayores a 0 °C y menores a 10 °C. Al día siguiente las plantas expuestas al estímulo de frío se recuperaron, pero con menor índice de potencia fotosintética (PI abs) que el testigo (T) ([Cuadro 1](#), día 5).

Luego, al simular la prolongación de esta condición desfavorable nocturna durante un día más con temperaturas menores de 0 °C, la eficiencia fotoquímica máxima (Fv/Fm) disminuyó por debajo de 0,6 y el índice de potencia fotosintética alcanzó un valor nulo (0,00) ([Cuadro 1](#), día 7), produciéndose la muerte de la planta. Con temperaturas entre 0 y 10 °C las Fo y Fm se incrementaron y disminuyeron respectivamente con relación al testigo, T ([Cuadro 1](#), día 2) tal como sucedió con temperaturas bajo 0 °C ([Cuadro 1](#), día 4). Sin embargo, con temperaturas bajo 0 °C, mayor fue el incremento de la Fo y menor la Fm con respecto al tratamiento testigo, T ([Cuadro 1](#), día 4). Cuanto mayor tiempo fue la exposición a temperaturas bajo 0 °C, mayor resultó la disminución de la Fo y Fm ([Cuadro 1](#), día 7), resultando en un daño tal que produjo la muerte de la planta.

En las plantas expuestas al frío (<10°C y >0°C) se pudo medir un incremento de la peroxidación lipídica, a juzgar por el aumento de la concentración de MDA ([Cuadro 1](#), día 2).

DISCUSIÓN

En los sistemas semiforzados, como por ejemplo los realizados mediante túneles bajos de polietileno, posiblemente el efecto de las bajas temperaturas durante los primeros 30 a 40 días después del trasplante, alteran la capacidad fotosintética de la planta disminuyendo la productividad del cultivo, provocando daños en las membranas celulares o directamente produciendo la muerte de las plantas de ocurrir temperaturas inferiores a 0 °C. La importancia del estudio del estrés causado por las bajas temperaturas en cultivo de melón en condiciones de semiforzado, está dada en que producen una disminución de la productividad del orden del 10 al 30 %, cuando las plantas están expuestas a bajas temperaturas durante los primeros 30 a 40 días después del trasplante (Korkmaz & Dufault, 2001). En plantas afectadas con temperaturas nocturnas menores a 0 °C se observó una menor funcionalidad de los fotosistemas I y II (Ceacero *et al.*, 2012). La importancia de los resultados obtenidos aquí, es que el índice de potencia fotosintética (PI abs), es altamente informativo del estado del aparato fotosintético. Esto es debido a que en sí mismo integra tres procesos: la eficiencia fotoquímica primaria (Fv/Fm), la eficiencia de conversión de energía en la fase oscura de la fotosíntesis y la densidad de los centros de reacción activos en la clorofila (Ceacero *et al.*, 2012). Condiciones tan extremas de temperaturas bajas como las experimentadas aquí, ponen de relieve la extrema susceptibilidad y sensibilidad de esta especie a los daños por frío y su dificultad de recuperación (Gordon & Staub, 2011).

La situación de frío lograda artificialmente, reproduce lo que normalmente sucede por ejemplo en condiciones de cultivos en invernadero sin calefacción. Con temperaturas por debajo de 0 °C y según la severidad del estrés, se afectan los lípidos de la membrana celular y, si se prolonga el enfriamiento, se produce una pérdida del contenido celular que conduce a la muerte celular (Lyons *et al.*, 1979). Sin embargo, en nuestra experiencia, con temperaturas bajo 0 °C y con dos noches de exposición, el daño puede haber sido producido antes, al afectarse la cadena transportadora de electrones.

Con los resultados obtenidos en esta experiencia, posiblemente las temperaturas menores a 10 °C no solo afectarían la regulación de la actividad del PSII (foto-inhibición) sino también daños en los centros de reacción del PSII (foto-inactivación), siendo más importante cuanto menor la temperatura (Ceacero *et al.*, 2012). Existen trabajos relacionados con los procesos que alteran la eficiencia fotoquímica, en donde cuando hay una disminución de la Fo y Fm, el problema se sitúa a nivel de la regulación de la actividad del PSII (Epron *et al.*, 1992; Osmond *et al.*, 1993). Ambos procesos afectan la capacidad fotosintética de las plantas (Russell *et al.*, 1995; Oxborough, 2004; Ceacero *et al.*, 2012).

Por otra parte, cuando las plantas son sometidas a condiciones de bajas temperaturas, se desencadenan modificaciones moleculares y fisiológicas que alteran las membranas celulares y el incremento en los niveles de ROS (Theocharis *et al.*, 2012). En nuestra experiencia, la disminución observada en la relación Fv/Fm y PI

abs en las plantas de los tratamientos con baja temperatura, posiblemente provocó que el exceso de energía haya sido utilizada para la reducción de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Fryer *et al.*, 2001; Navarrete Gallegos *et al.*, 2012). Esto puede deducirse al analizar la mayor concentración de MDA medido en plantas tratadas con frío en comparación con las plantas del tratamiento utilizado como testigo (Cuadro 1, día 2). Las EROs se caracterizan por ser moléculas altamente reactivas, que producen daños a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, produciendo peroxidación lipídica, desnaturalización de proteína y mutación de ADN (Gulen & Eris, 2004). Sin embargo, también se ha podido determinar que son moléculas involucradas en procesos que conducen a la aclimatación al estrés (Suzuki *et al.*, 2011).

Respecto a los fotosistemas, se observó que tanto el PSI como el PSII son afectados por bajas temperaturas dependiendo de la radiación incidente, siendo PSI y PSII afectados por baja y alta intensidades, respectivamente (Casierra Posada, 2007). Ambos fotosistemas sufren la acción adversa de las especies reactivas de oxígeno (EROs), oxígeno singlete en el PSII y anión superóxido en el PSI (Fryer *et al.*, 2001). En plantas sensibles al frío como es el caso de melón (Kratsch & Wise, 2000) PSI es más afectado que el PSII debido: 1) a la acumulación de poder reductor próximo al PSI, al disminuirse la fijación de CO₂; 2) a la inactivación de la superóxido dismutasa que se encuentra próxima al PSI, con lo cual habría acumulación de anión superóxido y posterior daño en los centros de reacción del PSI; y 3) a la tasa de restitución de las proteínas dañadas, constituyentes de los fotosistemas, donde la proteína D1 del PSII se restituye rápidamente ante alta intensidad lumínica y la proteína PSaB del PSI, más lento. Ante condiciones adversas lo primero que se inhibe es el PSII y se produce daño en la proteína D1, debido a que las proteínas del PSI son más estables. En condiciones de oscuridad y con aplicaciones de peróxido de hidrógeno se produce daño en la proteína del PSII, no así las del PSI (Russell *et al.*, 1995; Casierra Posada, 2007).

CONCLUSIONES

La Fv/Fm y PI abs disminuyeron con temperaturas bajas (>0°C - <10°C) recuperándose una vez pasado el frío.

Con temperaturas <0°C y ≥-3°C durante una noche, disminuyó la Fv/Fm y PI abs, recuperándose parcialmente una vez pasado el frío, con una mayor disminución del PI abs, en las plantas sometidas al frío.

Con temperatura <0°C y ≥-3°C con más días de exposición, disminuyó de manera importante Fv/Fm y PI abs, produciéndose la muerte de las plantas.

La exposición a bajas temperaturas (>0 °C - <10°C) incrementó la peroxidación lipídica medida a través de una mayor síntesis de MDA.

BIBLIOGRAFIA

- 1 **Björkman, O. & Demmig B.** 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170(4):489-504.
- 2 **Casierra Posada, F.** 2007. Foto inhibición: Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1(1): 114-123
- 3 **Ceacero, C.J.; Díaz-Hernández, J.L.; Campo, A. D. & Navarro-Cerrillo, R. M.** 2012. Evaluación temprana de técnicas de restauración forestal mediante fluorescencia de la clorofila y diagnóstico de vitalidad de brinzales de encina (*Quercus ilex sub. ballota*). *Bosque* 33(2):191-202.
- 4 **Epron, D. & Dreyer, E.** 1992. Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt) Liebl.: photosystem II efficiency, photochemical and nonphotochemical fluorescence quenching and electrolyte leakage. *Tree Physiol.* 10:273–284.
- 5 **Esterbauer, H. & Cheeseman, K.H.** 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 186:407-414.
- 6 **Fryer, M.J.; Oxborough, K.; Mullineaux, P.M. & Baker, N.R.** 2001. Imaging of photo-oxidative stress responses in leaves. *J. Exp. Bot.* 53:1249-1254.
- 7 **González Moreno, S.; Perales Vela, H. & Salcedo Alvarez, M.O.** 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *REB* 27(4):119-129.
- 8 **Gordon, V.S. & Staub J.E.** 2011. Comparative Analysis of Chilling Response in Cucumber Through Plastidic and Nuclear Genetic Effects Component Analysis. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 136(4):256-264.
- 9 **Gulen H. & Eris, A.** 2004. Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants. *Plant Science* 166:739-744.
- 10 **Gülen, H.; Çetinkaya, C.; Kadioğlu, M.; Kesici, M.; Cansev, A. & Eriş, A.** 2008. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria X ananassa*) plants under low temperature. *J. Biol. Environ. Sci.* 2(6):95-100.
- 11 **Korkmaz, A. & Dufault R.J.** 2001. Developmental Consequences of Cold Temperature Stress at Transplanting on Seedling and Field Growth and Yield. II. Muskmelon. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126(4):410-413.
- 12 **Kratsch, H.A. & Wise, R.R.** 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environ.* 23(4):337-350.
- 13 **Lyons, J.M.; Graham, D. & Raison, J.K.** 1979. Low temperature stress in crop plants. The role of the membranes. Academic Press. New York. 559 p.
- 14 **Maxwell, K. & Johnson, G.N.** 2000. Chlorophyll fluorescence. A practical guide. *J. Exp. Bot.* 51(345):659-668.

- 15 Navarrete Gallegos, A.A.; Bravo, L.A.; Molina Montenegro, M.A. & Corcuera, L.J.** 2012. Respuestas antioxidantes en dos eco tipos de *Colobanthus quitensis* (*Caryophyllaceae*) expuestos a alta radiación UV-B y baja temperatura. *Revista Chilena de Historia Natural* 85:419-433.
- 16 Osmond, C.B.; Ramus, J.; Levavasseur, G.; Franklin, L.A. & Henley, W.J.** 1993. Fluorescence quenching during photosynthesis and photoinhibition of *Ulva rotundata* Blid. *Planta* 190:91-106.
- 17 Oxborough, K.** 2004. Imaging of chlorophyll a fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *J. Exp. Bot.* 55:1195-1205.
- 18 Russell, A.W.; Critchley, C.; Robinson, S.A.; Franklin, L.; Seaton, C.C. R.; Chow, W.S.; Anderson, J. & Osmond, C. B.** 1995. Photosystem II Regulation and Dynamics of the Chloroplast D1 Protein in *Arabidopsis* Leaves during Photosynthesis and Photoinhibition. *Plant Physiol.* 107:943-952.
- 19 Suzuki, N.; Koussevitsky, S.; Mittler, R. & Miller, G.** 2011. ROS and redox signaling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell Environ.* 35:259-270.
- 20 Theocharis, A.; Clément, C. & Barka E.A.** 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta* 235:1091-1105.