

CAMBIOS DIARIOS DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EN HOJAS DE CALÉNDULA BAJO SOL Y SOMBRA

DIURNAL CHANGES IN PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS CONTENT IN SUN AND SHADE MARIGOLD LEAVES

Fánor Casierra-Posada^{1*}, Omar F. Ávila-León² y Donald H. Riascos-Ortíz³

Recibido para publicación: Enero 8 de 2012 - Aceptado para publicación: Abril 26 de 2012

RESUMEN

La caléndula (*Calendula officinalis* L.) es una planta medicinal de gran importancia en la medicina no convencional, desde la homeopatía hasta la medicina oriental. La comercialización de caléndula se encuentra en segundo lugar en Colombia, entre las plantas utilizadas para la fitofarmacia de especies medicinales. Se realizó un estudio en Tunja, Colombia, en el que se evaluó cada hora el contenido de clorofilas y carotenos, en plantas de caléndula cultivadas a plena exposición y bajo una malla de polisombra del 37% de reducción de luz. La extracción de los pigmentos se realizó por dilución en metanol y su concentración se determinó con un espectrofotómetro. Se encontró que los contenidos de clorofila *b*, carotenos y clorofila total mostraron diferencias a lo largo del día con tendencia al incremento entre las 6:00 y 18:00 horas. La sombra afectó las relaciones clorofila *a* / clorofila *b* y carotenos / clorofila. Mientras que el valor de la relación clorofila *a* / clorofila *b* fue más elevado en hojas de plantas sombreadas, el valor de la relación carotenos / clorofila fue más alto en las plantas que crecieron a plena exposición. Los cambios diarios en el contenido de pigmentos han sido motivo de controversia a través de los resultados de muchos trabajos, sin embargo, se debe tomar en consideración que la concentración de pigmentos varía con la edad de las hojas y con la especie.

Palabras clave: *Calendula officinalis*, estrés, clorofila, carotenos.

ABSTRACT

Calendula (*Calendula officinalis* L.) is an essential medicinal plant in unconventional medicine from homeopathy to oriental medicine. Marketing of marigold lies in second place in Colombia, among the plants used for phytopharmacy of medicinal species. A study was carried out in Tunja, Colombia, aimed to evaluate, hourly, the chlorophylls and carotenenes content in marigold plants grown at full sun exposure or under a

¹Ingeniero Agrónomo PhD., docente asociado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja / Colombia. Grupo de Investigación Ecofisiología Vegetal.

²Ingeniero agrónomo, programa de Ingeniería Agronómica, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja-Colombia

³Ingeniero agrónomo MSc., docente catedrático en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja / Colombia. Grupo de Investigación Ecofisiología Vegetal.

*Autor para correspondencia. E-mail: fanor.casierra@uptc.edu.co

37% shade cloth. The pigments extraction was carried out by diluting in methanol and its concentration was determined by a spectrophotometric method. Results showed differences of the contents of chlorophyll *b*, carotenes and total chlorophyll throughout the day with trend to increase between 6:00 and 18:00 hours. Shade affected the chlorophyll *a* / chlorophyll *b* ratio and carotenes / chlorophyll ratio. While the value of the chlorophyll *a* / chlorophyll *b* ratio was higher in leaves of shaded plants, the value carotenes / chlorophyll ratio was higher in plants grown under full sun exposure. Daily changes in pigment content have been controversial over the results of many studies, however, it should be taken into account that pigments content varies with age of leaves and among species.

Key words: *Calendula officinalis*, stress, chlorophyll, carotene.

INTRODUCCIÓN

Existe una tendencia generalizada por el consumo de productos naturales, por tanto, los mercados internacionales de plantas aromáticas y sus derivados, han registrado un notable incremento (Corporación Colombia Internacional 2004). Entre las plantas medicinales, luego de la alcachofa, *Calendula officinalis* la segunda especie con mayor volumen de comercialización en Colombia, empleada por el 72% de los laboratorios que procesan plantas aromáticas en el país. La materia prima de esta especie, se origina en cultivos procedentes de localidades de Cundinamarca (Duque 2001). A pesar de su importancia para la industria farmacéutica, se han realizado pocas investigaciones relacionadas con la fisiología de esta planta.

Las fluctuaciones diarias en la cantidad de clorofila en hojas de plantas superiores ha sido objeto de estudio de muchos investigadores. Sin embargo, también ha sido materia de duda puesto que los resultados pueden deberse al uso de técnicas inadecuadas (Wickliff y Aronoff 1962). Seybold y Falk (1959) no observaron cambios diurnos en el contenido de clorofila en hojas maduras y sugieren que los resultados reportados por otros investigadores

son inherentes a los métodos de análisis empleados. Bauer (1958) concluyó que no existen cambios diarios en el contenido de clorofila en hojas adultas de muchas especies, sin embargo, existe variación en el contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas jóvenes.

El contenido de clorofila en las hojas es un parámetro muy útil para evaluar el estado fisiológico de las plantas. Todas las hojas verdes presentan mayor capacidad de absorción en el rango de 400 - 700 nm, en donde sucede la transmisión de electrones entre clorofilas y carotenos (Zhang et al. 2007). El contenido pigmentos fotosintéticos puede cambiar como respuesta a factores causantes de estrés, a la capacidad fotosintética o al estado de desarrollo de la planta (Ustin et al. 1998). Mitrakos (1960) encontró evidencias de variaciones diurnas en el contenido de clorofila en cotiledones de *Perilla ocymoides*. Virgin (1961) reportó que la posibilidad de las hojas de trigo, de sintetizar protoclorofila, se reduce con la edad de la hoja. Por su parte Ulehla (1961) menciona que la posibilidad de sintetizar clorofila en hojas de guisante, de igual manera se reduce con la edad con su posición en la planta. Por su parte Wickliff y Aronoff (1962) comentan que la ausencia de variaciones diurnas en el contenido de clorofila en hojas de soya podría

ser una consecuencia de la ausencia de un sistema efectivo de síntesis de protoclorofila.

La sombra es una forma de estrés que limita considerablemente la fotosíntesis y el crecimiento de las plantas. La formación de hojas delgadas parece ser una característica favorable para las plantas que crecen en ambientes sombreados, dado que permiten mayor capacidad de difusión y contenido de CO₂ para el interior del mesófilo (Syvertsen et al. 1995). Se ha encontrado que la intensidad de la luz incidente, tiene la propiedad de causar cambios no sólo en el contenido de clorofilas, sino también en la concentración de metabolitos secundarios en plantas utilizadas en fitofarmacia. Tanto el espectro lumínico como la intensidad luminosa pueden estimular la producción de metabolitos secundarios bajo condiciones de baja iluminación en plantas medicinales, como metilxantinas en *Ilex paraguariensis* (Coelho et al. 2007), alcaloides en *Delphinium barbeyi* (Ralphs et al. 1998), y aloína (barbaloina) en *Aloe mutabilis* (Chausser-Volfson y Gutterman 1998). En *Glycyrrhiza uralensis*, el contenido de ácido glicirrónico y deliquiritina se incrementaron con la exposición de las plantas a la sombra (Hou et al. 2010).

El objetivo del presente estudio fue determinar la variación en el contenido de clorofila y carotenos, durante el día, en plantas de *Calendula officinalis* expuestas a la sombra y a la plena exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron plantas de caléndula provenientes de semilla, del ecotipo de flor anaranjada. Cinco semanas después de la emergencia, las

plántulas se transfirieron a bolsas plásticas con capacidad para 2 kg. Las plantas se expusieron a dos tratamientos (plena exposición solar y bajo un sombreado del 37%) con tres replicaciones. El sombreado se logró colocando una malla polisombra (37% de sombreado), desde 20 días después del trasplante hasta el final del estudio.

La radiación global durante el estudio fluctuó entre 294,68 y 593,60 cal cm⁻². La temperatura promedio a plena exposición y bajo sombra fue de 20,4 y 19,2 °C, respectivamente. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) durante todo el ensayo fue de 896,25 y 562,98 µmol m⁻²s⁻¹ en promedio, a plena exposición y bajo sombra, respectivamente, determinada con un medidor Light Scout Quantum Meter 3415 (Spectrum Technologies, Inc. Plainfield, IL - USA).

Para la determinación del contenido de pigmentos, del tercio medio de la planta, se tomaron dos hojas adultas por planta, en diez plantas, cada hora, entre las 6:00 y las 18:00 del día, para un total de 20 muestras por hora, en donde cada hoja representó una muestra. Las hojas se tomaron ocho semanas luego del trasplante. Los pigmentos se extrajeron por macerado y dilución en metanol al 70% en condiciones de oscuridad, a temperatura ambiente (19°C), y se expresó en mg g⁻¹ de masa fresca, a partir de las ecuaciones de Lichtenthaler y Wellburn (1983). Las lecturas se realizaron con un espectrofotómetro Spectronic 401 (Milton Roy, Ivyland - USA), a densidades ópticas de 663; 646 y 470 nm. Además de los contenidos de clorofilas y carotenos, se calcularon las relaciones clorofila *a* / clorofila *b* y carotenos / clorofila total.

El experimento tuvo un diseño en bloques al

azar, con tres replicaciones, organizado como 13 x 2 factorial. Los factores evaluados fueron: 13 horas del día (desde las 6:00 hasta las 18:00 horas) y dos condiciones de iluminación (plena exposición y sombra). La información resultante se examinó mediante un análisis de variancia, con una prueba de separación de promedios de Duncan al 5%, con el uso de la aplicación IBM SPSS Statistics versión 19.0.0 (IBM, N.Y., USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación con la hora del día, no se encontró diferencia estadísticamente significativa para el contenido de clorofila *a*, pero sí para la cantidad de clorofila *b*, carotenos y clorofila total en las hojas ($P < 0,05$), como se muestra en la tabla 1. Tanto para el contenido de clorofila *b* y carotenos, como para el total de clorofila, se encontró una tendencia creciente en la medida en que avanzaba la hora del día.

Se han encontrado diferencias en la reflectancia de las hojas y de la fronda, en plantas sanas y estresadas, como consecuencia de los cambios en el contenido de clorofilas en las láminas foliares (Gitelson et al. 1996). Zhang et al. (2007) encontraron una fuerte variación estacional en el promedio del contenido total de clorofila en hojas de *Acer saccharum*. En la época temprana de la estación de crecimiento, durante la expansión de las hojas, se observó un incremento en el contenido de clorofila_(a+b). Además, estos autores encontraron diferencias en el contenido promedio de clorofila total en las hojas de la parte alta de la fronda y las de la parte baja, con menor iluminación. De hecho, las hojas de la parte baja del dosel manifestaron una tendencia estacional similar, en cuanto al contenido total de clorofila, al que presentaron las hojas de la parte alta del dosel. Por otro lado, el promedio de la concentración de clorofila_(a+b) en las hojas de la parte baja del dosel fue menor que el de las hojas de la parte alta, durante la

Tabla 1. Cambios en el contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula (*Caléndula officinalis* L.), durante el día (n=20)¹

Hora	Clorofila <i>b</i>	Carotenos	Clorofila total
	(mg g ⁻¹)	(mg g ⁻¹)	(mg g ⁻¹)
6:00	0,51 ± 0,15 a	1,73 ± 0,61 a	1,15 ± 0,30 ab
7:00	0,52 ± 0,16 a	1,82 ± 0,55 ab	1,14 ± 0,33 a
8:00	0,54 ± 0,16 a	1,93 ± 0,62 abc	1,18 ± 0,33 abc
9:00	0,54 ± 0,14 ab	1,93 ± 0,60 abc	1,16 ± 0,25 ab
10:00	0,57 ± 0,08 abcd	2,04 ± 0,39 abc	1,21 ± 0,18 abc
11:00	0,53 ± 0,13 a	1,77 ± 0,59 a	1,15 ± 0,24 a
12:00	0,61 ± 0,15 abcd	2,00 ± 0,60 abc	1,29 ± 0,29 abc
13:00	0,60 ± 0,14 abcd	2,04 ± 0,50 abc	1,29 ± 0,28 abc
14:00	0,64 ± 0,12 bcd	2,09 ± 0,46 abc	1,34 ± 0,25 bc
15:00	0,57 ± 0,11 abc	1,88 ± 0,52 abc	1,21 ± 0,21 abc
16:00	0,64 ± 0,13 cd	2,23 ± 0,50 c	1,29 ± 0,27 abc
17:00	0,66 ± 0,14 d	2,26 ± 0,60 c	1,33 ± 0,29 abc
18:00	0,65 ± 0,14 cd	2,20 ± 0,56 bc	1,36 ± 0,28 c

¹Datos promedios de 20 observaciones. Letras diferentes en la columna indican diferencia estadísticamente significativa, según la prueba de Duncan ($P < 0,05$).

temporada de crecimiento. Por su parte, Carter y Spiering (2002) mencionan que las diferencias en el contenido de clorofilas en las hojas puede ser un índice del vigor de la planta y de su capacidad fotosintética, la cual depende en gran medida de contenido de pigmentos.

Wickliff y Aronoff (1962) mencionan que el contenido de clorofila en hojas no expandidas de *Glycine max* presenta una variación diaria menor al 1%. Aseguran los autores que sus datos son confiables, dada la cantidad de muestras (18 muestras con dos determinaciones cada una, por hora durante 24 horas) que tomaron en cada momento, lo cual es una fortaleza en la confiabilidad de los resultados, en comparación de los reportes de Seybold y Falk (1959) y Bauer (1958), quienes reportaron que las variaciones diarias en los contenidos de clorofila tienen lugar en las hojas jóvenes, pero no en las maduras. Sin embargo, Wickliff y Aronoff (1962) mencionan que desafortunadamente, los trabajos de Seybold y Falk (1959) y Bauer (1958) se realizaron con un número limitado de muestras. Adicionalmente, la amplitud de las variaciones en el contenido de pigmentos mencionado por Bavrina (1959) pudo ser más una consecuencia de variaciones en la metodología de muestreo, que de los contenidos de pigmentos *per se*.

Tanto los cambios reversibles, como los irreversibles en los contenidos de clorofila, se han propuesto como fundamento de la variación diurna en el contenido de clorofila en hojas. Aronoff (1959) sugirió un proceso reversible entre clorofila y leucoclorofila, que justificaría las fluctuaciones en el contenido del pigmento, lo cual fue corroborado por Coleman y Rabinowitch (1959) y Krasnovsky

(1958), quienes encontraron que esta interconversión fotoquímica se presenta en células de *Chlorella Beta vulgaris*. El proceso irreversible, o destrucción de la clorofila, representa un sistema dinámico de dos procesos principales: un desbalance variable que se reflejaría en las fluctuaciones a corto plazo, en el contenido de clorofila, o un efecto *turnover* en las moléculas de clorofila, a largo plazo (Wickliff y Aronoff 1962).

Wickliff y Aronoff (1962) encontraron una reducción en el contenido total de clorofilas, en un lapso de 24 h, sin fluctuaciones significativas. Los autores mencionan que por tanto, la presencia de un proceso reversible entre clorofila y leucoclorofila no sería evidente en hojas de soya, puesto que la reducción en el contenido de clorofila implica una destrucción irreversible del pigmento. Bajo las condiciones del presente trabajo, a diferencia de los hallazgos de Wickliff y Aronoff (1962), se encontró un incremento en el contenido de clorofila total entre las 6:00 y 18:00 h, lo que se justificaría con el proceso reversible clorofila-leucoclorofila sugerido por Aronoff (1959), Coleman y Rabinowitch (1959) y Krasnovsky (1958). Por tanto, estos argumentos justifican las variaciones en los contenidos de pigmentos en hojas presentados en la tabla 1, dado que los pigmentos fotosintéticos se pueden alterar a lo largo del día como consecuencia de la oferta ambiental.

Bajo las condiciones en que se desarrolló el presente ensayo, se pudo observar que la densidad de flujo de fotones fue baja, para las condiciones normales de trópico, incluso a plena exposición (figura 1). Además de que la localidad donde se desarrolló el trabajo tiene

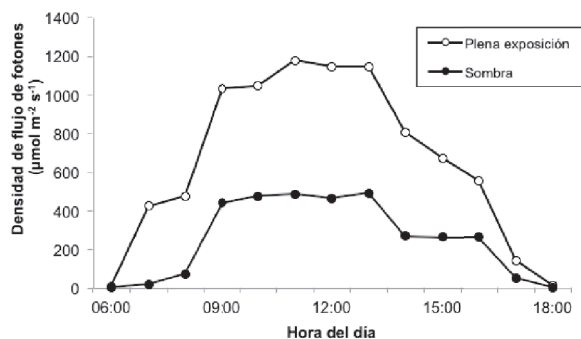


Figura 1: Densidad de flujo de fotones registrado durante el día en plantas de caléndula (*Calendula officinalis* L.) a plena exposición y bajo sombra al 37%. Datos promedios de cuatro observaciones.

presencia casi permanente de nubes, se debe tener en cuenta que durante el desarrollo del trabajo, la región se encontraba influenciada por una época lluviosa como consecuencia del fenómeno La Niña, que se presentó en 2011. Estos factores indujeron bajas condiciones de iluminación, lo cual se vio reflejado en las diferencias en los contenidos de clorofila en ambos ambientes de iluminación. El máximo de radiación se incrementa a medida que disminuye la declinación solar, debido a que el sol se encuentra perpendicular a la zona tropical. En general, alrededor del 45% de la radiación incidente se encuentra en el rango espectral de 380 - 710 nm. La radiación UV (UV-A a 315-380 nm; UV-B a 280-315 nm) no se utiliza en el proceso de fotosíntesis, pero sí puede causar daños a las clorofilas y al DNA (Larcher 1995). En condiciones tropicales, con el incremento en la altitud, se reduce la temperatura, la presión parcial de los gases y la precipitación, mientras que la radiación UV se incrementa (Fischer 2000). Este incremento en la radiación UV podría explicar el comportamiento de la relación carotenos / clorofila, que se discutirá más adelante.

Mitrakos (1959) reportó que la intensidad de la luz durante un periodo de 24 h tiene una marcada influencia sobre la síntesis y la destrucción de la clorofila. Adicionalmente, Friend (1961) encontró que la temperatura, afecta directamente la acumulación de clorofila en hojas de trigo, debido a que influye sobre la actividad de las enzimas implicadas en la síntesis de protoclorofila. Por tanto, tanto las variaciones en la temperatura, como en la intensidad luminosa afectan la variación diurna del contenido de clorofila en las hojas, en donde el balance entre síntesis y destrucción del pigmento gobierna la acumulación de clorofila. En el presente trabajo, las plantas de caléndula estuvieron expuestas a diferente intensidad luminosa. Esto indujo una diferencia de 1,2°C en ambos tratamientos, lo que puede justificar las diferencias en la relación clorofila *a* / clorofila *b* mostradas en la figura 2.

A diferencia del hallazgo presentado en la figura 2, Nagel (2006) reportó que plantas expuestas a altas intensidades lumínicas presentan mayor contenido de clorofilas. De hecho, un incremento en la intensidad luminosa, de 60 a 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ indujo un incremento en la concentración de estos pigmentos, en sólo cuatro días, en hojas de plantas de tabaco. Cuatro días luego del incremento en la intensidad luminosa, se presentó un aumento en el contenido de clorofila, el cual no era estadísticamente significativo con el encontrado en plantas expuestas a baja intensidad luminosa, de manera continua. Esto significa que las plantas que están expuestas a una intensidad luminosa determinada se acondicionan a este factor, sin embargo, modificaciones extremas en la intensidad luminosa pueden causar no sólo

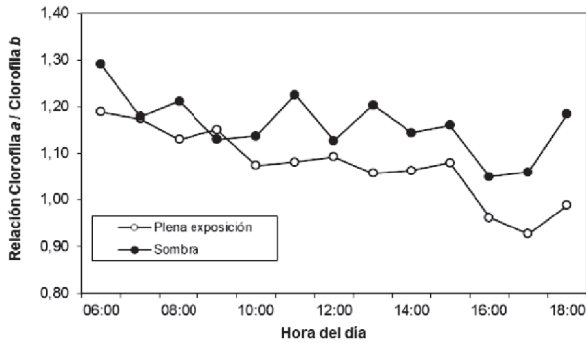


Figura 2: Relación Clorofila a / Clorofila b en hojas de caléndula (*Calendula officinalis* L.) provenientes de plantas desarrolladas a plena exposición y bajo sombra al 37%. Datos promedios de diez observaciones.

cambios en el contenido de clorofilas (Nagel 2006), sino también fotoinhibición (Casierra-Posada 2007).

La reducción en el valor de la relación clorofila a / clorofila b en el transcurso del día, mostrado en la figura 2, se presentó debido a un incremento en el contenido de clorofila b durante el día, como se muestra en la tabla 1. Se debe mencionar que las diferencias encontradas en el valor de esta relación en las plantas expuestas a diferente intensidad luminosa, pudo ser una consecuencia de que el fotosistema II es rico en clorofila b, además, bajo condiciones de exceso de iluminación, este fotosistema es más inestable que el fotosistema I (Powels 1984; Casierra-Posada 2007). Adicionalmente, las variaciones diurnas encontradas en la relación clorofila a / clorofila b en hojas de caléndula, pudo ser una consecuencia de la posibilidad de estas hojas de sintetizar protoclorofila, como mencionan Ulehla (1961) y Virgin (1961).

Utkilen et al. (1983) reportaron que cuando se reduce la intensidad luminosa de 445 a 31 μE

$\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, el contenido de clorofila se incrementó tres veces por unidad de volumen de células de *Anacystis nidulans*. De igual manera, el contenido de clorofila en las membranas fotosintéticas se incrementó cuando se redujo la intensidad luminosa de 445 a 283 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y permaneció constante a intensidades bajas de luz.

La relación clorofila a / clorofila b se reduce con la senescencia de las hojas y bajo condiciones de baja disponibilidad de luz (Lei et al. 1996). Castro y Sanchez-Azofeifa (2008) encontraron diferencias marcadas en la relación clorofila a / clorofila b. Esta relación fue alta en hojas de *Populus tremuloides* bajo sombra, mientras que en *Populus balsamífera*, el valor de la relación fue alto en hojas colocadas a plena exposición, en comparación con hojas sombradas. En el presente trabajo, las hojas de caléndula colocadas bajo sombra presentaron un valor más alto en la relación entre ambas clorofilas, en comparación con las hojas de plantas que crecían bajo plena exposición, lo cual parece ser una tendencia generalizada (Lei et al. 1996), sin embargo, se pueden presentar excepciones, como encontraron Castro y Sanchez-Azofeifa (2008).

Las hojas de las plantas que se desarrollan bajo condiciones de baja iluminación presentan alta proporción de mesófilo esponjoso, lo cual les puede servir para incrementar la dispersión interna y la absorción de la luz, bajo estas condiciones de iluminación (García-Plazaola et al. 2003)

Los carotenos protegen las células y los tejidos de los radicales altamente oxidantes y del oxígeno singlete, mediante su actividad

antioxidante. Estos pigmentos cumplen también la función de ser colectores de fotones y actúan también como pigmentos accesorios en los fotosistemas y como agentes fotoprotectores que limitan los efectos dañinos de la iluminación alta (Johnson et al. 1993). Por tanto, los valores superiores encontrados en la relación carotenos / clorofila, bajo condiciones de alta iluminación (figura 3), serían el reflejo de una mayor síntesis de carotenos que de clorofilas, con el propósito de proteger los tejidos del estrés oxidativo causado por los radicales altamente reactivos de oxígeno (ROS).

Cuando las plantas se desarrollan bajo condiciones de oscuridad, la biosíntesis de clorofila se detiene al nivel de protoclorofilida, el precursor inmediato de la clorofilida, sin embargo, la síntesis de ácido δ -aminolevulinico se interrumpe una vez se haya llegado al cierto nivel umbral de protoclorofilida. No obstante, bajo condiciones de iluminación, la protoclorofilida se convierte en clorofilida y se libera el bloqueo de la biosíntesis de ácido δ -aminolevulinico (Reinbothe y

Reinbothe 1996). De hecho, se ha encontrado que en plántulas etioladas que contenían niveles elevados de grupos hemo, debido a la inactivación de la hemo-oxigenasa, la biosíntesis de protoclorofilida se redujo notoriamente (Muramoto et al. 1999).

En plántulas etioladas de angiospermas, la protoclorofilida está unida a la NADPH: protoclorofilida-oxidoreductasa (POR), formando complejos ternarios, bajo condiciones de oscuridad. La POR cataliza la reducción de protoclorofilida a clorofilida (Heyes y Hunter 2005), reacción que es estrictamente dependiente de la presencia de la luz, al menos en angiospermas (Reinbothe et al. 2010).

El contenido de clorofila en las hojas es un indicador confiable de la actividad fotosintética, de las mutaciones, del grado de estrés y del estado nutricional en la agricultura de precisión (Wu et al. 2008). En plantas sanas con alta capacidad de crecimiento, generalmente se espera que contengan concentraciones altas de clorofila, en relación con plantas poco saludables (Zarco-Tejada et al. 2004). Debido a que la mayoría del nitrógeno foliar está contenido en las moléculas de clorofila, la concentración de clorofila en las hojas es un índice de su contenido de nitrógeno (Daughtry et al. 2000), por tanto, la información relacionada con la variación en el contenido de clorofila bajo diferente intensidad de luz, en plantas de caléndula, se convierte en una información útil cuando se pretende utilizar el tejido foliar de las plantas para la obtención de compuestos de interés en la fitofarmacia.

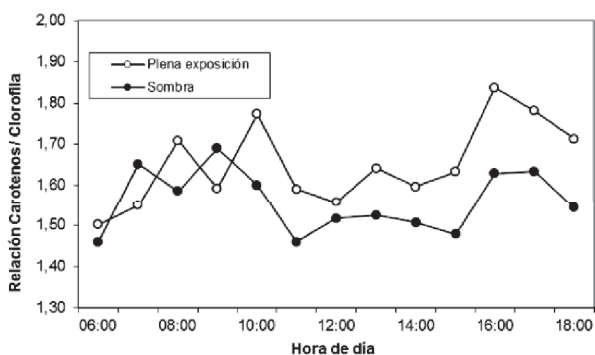


Figura 3: Relación Carotenos / Clorofila en hojas de caléndula (*Calendula officinalis* L.) provenientes de plantas desarrolladas a plena exposición y bajo sombra al 37%. Datos promedios de diez observaciones.

CONCLUSIONES

La sombra afectó considerablemente el contenido de pigmentos fotosintéticos y las relaciones entre ellos, pues mientras que el valor de la relación clorofila *a* / clorofila *b* fue mayor bajo sombra, a partir de las 10:00 am, el valor de la relación carotenos / clorofila_(a+b) fue menor en las mismas condiciones y hora del día. Además, fue evidente el papel fotoprotector de los carotenos en condiciones de plena exposición, debido al alto índice de radiación UV que se presenta en los trópicos de altura.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue desarrollado con el apoyo de la Dirección de Investigaciones (DIN) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, en el marco del plan de trabajo del grupo de investigación Ecofisiología Vegetal, adscrito al programa de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

REFERENCIAS

- Aronoff, S. 1959.** The "turnover" of chlorophyll. In: Radiation Biology & Medicine, W. D. Claus, ed. Addison-Wesley Pub. Co., Reading, Mass. p634-639.
- Bauer, A. 1958.** Die Konstanz des Chlorophyllgehaltes bei Laubblittern im Laufe eines Tages. *Planta* 51:84-98.
- Bavrina, T.C. 1959.** Diurnal changes of chlorophyll content in leaves. *Fiziol. Rastenii* 6:213-216.
- Carter, A.G. y Spiering, B.A. 2002.** Optical properties of intact leaves forestimating chlorophyll concentration. *J. Environ. Qual* 31:1424-1432.
- Castro, K.L. y Sanchez-Azofeifa, G.A. 2008.** Changes in spectral properties, chlorophyll content and internal mesophyll structure of senescing *Populus balsamifera* and *Populus tremuloides* leaves. *Sensors* 8:51-69.
- Casierra-Posada, F. 2007.** Fotoinhibición: Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1(1):114-123.
- Chausser-Volfson, E. y Gutterman, Y. 1998.** Content and distribution of anthrone C-glycosides in the South African arid plant species *Aloe mutabilis* growing in the direct sunlight and the shade in the Negev Desert of Israel. *J. Arid Environ* 40:441-451.
- Coleman, J.W. y Rabinowitch, E. 1959.** Evidence of photoreduction of chlorophyll *in vivo*. *J. Phys. Chem* 63:30-34.
- Coelho, G.C., Rachwal, M.F.G., Dedecek, R.A., Curcio, G.R., Nietsche, K. y Schenkel, E.P. 2007.** Effect of light intensity on methylxanthine contents of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. *Biochem. Syst. Ecol* 35:75-80.
- Corporación Colombia Internacional. 2004.** Plantas aromáticas y aceites esenciales. *Inteligencia de mercados* 24. Perfil del

- producto. http://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/2005113151357_perfil_producto_Aromaticas.pdf [27 Febrero 2012].
- Daughtry, C.S.T., Walthall, C.L., Kim, M.S., Brown de Colstoun, E. y McMurtrey III, J.E. 2000.** Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. *Remote Sens. Environ* 74:229-239.
- Duque, A. 2001.** Encuesta nacional de plantas medicinales y aromáticas una aproximación al mercado de las PMyA en Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Biocomercio Sostenible. Available online at: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Comercio.pdf> [1 Diciembre 2011].
- Fischer, G. 2000.** Ecophysiological aspects of fruit growing in tropical highlands. *Acta Hort. (ISHS)* 531:91-98.
- Friend, D.J.C. 1961.** The control of chlorophyll accumulation in leaves of Marquis wheat by temperature and light intensity. *Physiol. Plantarum* 14:28-39.
- García-Plazaola, J.I., Hernández, A. y Becerril, J.M. 2003.** Antioxidant and pigment composition during autumnal leaf senescence in woody deciduous species differing in their ecological traits. *Plant Biol* 5:557-566.
- Gitelson, A.A., Merzlyak, M.N. y Lichtenthaler, H. 1996.** Detection of red edge position and chlorophyll content by reflectance measurements near 700 nm. *Journal of Plant Physiology* 148:501-508.
- Heyes, D.J. y Hunter, C.N. 2005.** Making light work of enzyme catalysis: protochlorophyllide oxidoreductase. *Trends Biochem. Sci.* 30:642-649.
- Hou, J.-L., Li, W.-D., Zheng, Q.-Y., Wang, W.-Q., Xiao, B. y Xing, D. 2010.** Effect of low light intensity on growth and accumulation of secondary metabolites in roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Biochemical Systematics and Ecology* 38:160-168.
- Johnson, G.N., Scholes, J.D., Horton, P. y Young, A.J. 1993.** Relationships between carotenoid composition and growth habit in British plant species. *Plant Cell Environ* 16:681-686.
- Krasnovsky, A.A. 1958.** Reduction photochimique reversible de la chlorophylle et de ses analogues et mecanisme de la photosensibilisation. *J. Chimie Physique* p968-979.
- Larcher, W. 1995.** *Physiological plant ecology.* Springer, Berlin p506.
- Lei, T.T., Tabuchi, R., Kitao, M. y Koike, T. 1996.** Functional relationship between chlorophyll content and leaf reflectance, and light-capturing efficiency of Japanese forest species. *Physiol. Planta* 96:411-418.
- Lichtenthaler, H. y Wellburn, A. 1983.** Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in

different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 603:591-592.

biosynthesis. *Eur. J. Biochem* 237:323–343.

Mitrakos, K. 1959. Tagesperiodische Schwankungen der Fähigkeit zur Chlorophyllbildung. *Planta* 52:583-586.

Reinbothe, C., El Bakkouri, M., Buhr, F., Muraki, N., Nomata, J., Kurisu, G., Fujita, Y. y Reinbothe, S. 2010. Chlorophyll biosynthesis: Spotlight on protochlorophyllide reduction. *Trends in Plant Science* 15(11):614-624.

Mitrakos, K. 1960. Kurzperiodische Schwankungen in Chlorophyllgehalt von Kotyledonen verschiedener Entwicklungsstadien. *Planta* 54:365-370.

Seybold, A. y Falk, H. 1959. Die Heidelberger Chlorophyll bestimmungen- Eine Überprüfung. *Planta* 53:339-375.

Muramoto, T., Kohchia, T., Yokota, A., Hwang, I. y Goodman, H.M. 1999. The *Arabidopsis* photomorphogenic mutant *hy1* is deficient in phytochrome chromophore biosynthesis as a result of a mutation in a plastid heme oxygenase. *Plant Cell* 11:335-348.

Syvertsen, J.P., Lloyd, J., McConchie, C., Kriedemann, P.E. y Farquahar, G. 1995. On the relationship between leaf anatomy and CO₂diffusion through the mesophyll of *Hypostomatous* leaves. *Plant, Cell and Environment* 18:149-157.

Nagel, K.A. 2006. Abhängigkeit des Wurzelwachstums vom Lichtregime des Sprosses und deren Modifikation durch Nährstoffesowie im Gravitropismus. Tesis doctoral. Schriften des Forschungszentrums Jülich Reihe Umwelt /Environment Band. Universität Düsseldorf 6:119.

Ulehla, J. 1961. Correlative inhibition of formation of chlorophyll in the leaves of etiolated pea plants. *Nature* 191:613-614.

Powels, S.B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol* 35:14-44.

Ustin, S.L., Smith, M.O., Jacquemoud, S., Verstraete, M.M., y Govaerts, Y. 1998. *GeoBotany: Vegetation mapping for Earth sciences*, in *Manual of Remote Sensing, Remote Sensing for the Earth Sciences*, edited by A. N. Rencz, 3rd ed., John Wiley, Hoboken, N. J. 3:189-248.

Ralphs, M.H., Manners, G.D. y Gardner, D.R., 1998. Influence of light and photosynthesis on alkaloid concentration in larkspur. *J. Chem. Ecol.* 24:167-182.

Utkilen, H.C., Briseid, T y Eriksson, B. 1983. Variation in photosynthetic membrane and pigment content with light intensity for *Anacystis nidulans* grown in continuous cultures. *Journal of General Microbiology* 129:1717-1720.

Reinbothe, S. y Reinbothe, C. 1996. The regulation of enzymes involved in chlorophyll

- Virgin, H.I. 1961.** On the formation of protochlorophyllin normal green wheat leaves of varying age. *Physiol. Plantarum* 14: 384-392.
- Wickliff, J.L. y Aronoff, S. 1962.** Evidence for absence of diurnal variation of chlorophyll content in mature leaves of soybean. *Plant Physiol.* 37(5):590-594.
- Wu, C., Niu, Z., Tang, Q. y Wang, W. 2008.** Estimating chlorophyll content from hyperspectral vegetation indices: Modeling and validation. *Agricultural and Forest Meteorology* 148:1230-1241.
- Zarco-Tejada, P.J., Miller, J.R., Morales, A., Berjon, A. y Aguera, J. 2004.** Hyperspectral indices and model simulation for chlorophyll estimation in open-canopy tree crops. *Remote Sens. Environ.* 90:463-476.
- Zhang, Y., Chen, J.M. y Thomas, S.C. 2007.** Retrieving seasonal variation in chlorophyll content of overstory and understory sugar maple leaves from leaf-level hyperspectral data. *Can. J. Remote Sensing.* 33(5):406-415.