



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

---

Efecto del estrés lumínico e hídrico en la actividad fotosintética de  
plántulas de *Quercus crassipes*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

A M E D A C O S T A G O N Z Á L E Z

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARTHA OFELIA SALCEDO ÁLVAREZ

UNIDAD DE MORFOLOGÍA Y FUNCIÓN

LABORATORIO DE BIOQUÍMICA

LOS REYES IZTACALA , ESTADO DE MÉXICO, 2018.





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Contenido

Introducción .....	1
Antecedentes .....	3
i) Fotosíntesis y respiración .....	2
ii) Mecanismos de tolerancia .....	3
iii) Efectos generales del estrés lumínico e hídrico y sus interacciones .....	4
iv) Efectos del estrés lumínico e hídrico sobre la fotosíntesis y respiración .....	4
v) Efectos del estrés lumínico e hídrico sobre los eventos fotoquímicos de la fotosíntesis .....	5
vi) La fluorescencia de la clorofila a en el estudio de la fotosíntesis .....	5
vii) Modelo biológico.....	12
Objetivos .....	13
Objetivo General .....	13
Objetivos Particulares .....	13
Materiales y métodos .....	14
Protocolo experimental .....	14
Emisión de la fluorescencia de la clorofila a .....	14
Rendimiento cuántico. ....	14
Concentración de clorofilas .....	15
Tratamiento estadístico .....	18
Resultados y análisis .....	19

Rendimiento cuántico máximo .....	19
Rendimiento cuántico de transporte de electrones .....	22
Índice de funcionamiento .....	25
Parámetro de Genty o $\Phi_{PSII}$ .....	28
Valores de transporte electrónico .....	29
Concentración de clorofilas.....	30
Conclusiones .....	32
Bibliografía .....	35
Apéndice .....	41
Solución nutritiva Hoagland.....	41

## Índice de Figuras

- Figura 1. Fenómeno de absorción y disipación de energía lumínica por parte de la clorofila *a* en los estados excitados S1 y S2.....
- Figura 2. Efecto del estado de los centros de reacción sobre la intensidad de la señal de fluorescencia de la clorofila *a*. .....
- Figura 3. Efecto Kautsky de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a*.....
- Figura 4. Modelo de flujos energéticos en un sistema fotosintético de organismos eucariontes.....
- Figura 5. Protocolo para el análisis del decaimiento de la fluorescencia de la clorofila *a* mediante pulsos de luz modulada. ....

## Índice de Tablas

- Tabla 1. Definición de los parámetros utilizados en el análisis JIP de la cinética polifásica de la fluorescencia de la clorofila *a*.....

## Abreviaturas

PSII	Fotosistema dos (agua-plastoquinona oxidorreductasa impulsada por luz)
PSI	Fotosistema uno (plastocianina-ferredoxina oxidorreductasa impulsada por luz)
CLO	Complejo liberador de oxígeno
RC	Centro de reacción
QA	Primer aceptor estable del fotosistema dos
QB	Segundo aceptor estable del fotosistema dos
ABS	Absorción de energía en las antenas del fotosistema dos
TR	Atrapamiento de excitones en el centro de reacción del fotosistema dos
ET	Transporte electrónico en los intermediarios de la cadena fotosintética
ETR	Tasa de transporte electrónico del fotosistema dos
NAD(H)	Nicotina adenina dinucleótido (reducida)
NADP(H)	Nicotina adenina dinucleótido fosfato (reducida)
JIP	Prueba matemática para el análisis de la fluorescencia polifásica

## Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de estrés lumínico e hídrico en la actividad fotosintética de plantas de *Quercus crassipes*, a través del análisis de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II del aparato fotosintético de plantas, el cual hace posible caracterizar los efectos y modos de acción de diferentes tipos de estrés ambiental. La mayoría de las plantas reciben más luz solar de la que pueden usar para la fotosíntesis, si el exceso de energía lumínica que ha sido absorbido por el aparato fotosintético no puede ser disipado rápidamente, puede reducir la eficiencia fotosintética, dar lugar a la fotoinhibición y a daño fotooxidativo del centro de reacción y por tanto afectar drásticamente el desarrollo de estas. Es importante el estudio del estrés lumínico e hídrico al que están sometidos los árboles del género *Quercus* en las zonas de reforestación.

En el presente trabajo se caracterizó el impacto que tienen dos intensidades de luz y humedad aprovechable y sus interacciones sobre la actividad fotoquímica de plantas de *Quercus crassipes*. Se obtuvieron plantas de 6 meses de edad de *Quercus crassipes* bajo condiciones controladas de temperatura y luz; se mantuvieron en macetas que contenían una mezcla de agrolita, peat moss y tierra negra (1:1:2 v:v:v) en condiciones de invernadero y 80% de humedad aprovechable en el suelo (Aguilera, 1996) regadas con agua destilada y con solución Hogland por un mes hasta el inicio de los tratamientos.

Cuatro grupos de catorce plantas fueron sometidas a dos condiciones de luz y humedad de suelo. El control (R) consistirá de riego a 80% de humedad aprovechable (HA) y luz en condiciones de invernadero (aproximadamente 40% de luz solar). El grupo SI se tuvo a una condición de 30% de HA, en condiciones de invernadero. El grupo RE consistió de condiciones naturales de luz solar y riego a 80% de HA, además la combinación de los efectos se evaluó a 30% de HA y condiciones naturales de luz solar resultando el grupo SE; las variables utilizadas en este estudio 80% de HA, 30% de HA, luz solar y luz en invernadero dieron lugar a las literales R, S, E, I, respectivamente.

Los parámetros medidos indican que intensidades altas de irradiación solar tiene un impacto negativo sobre la fotoquímica primaria, el rendimiento cuántico máximo, el

rendimiento cuántico de transporte de electrones, el índice de funcionamiento, el parámetro de Genty y el ETR mostraron gran sensibilidad ante la alta irradiación solar.

Se demostró que las condiciones de humedad aprovechable que se presentaron no tuvieron efecto sobre el comportamiento de la fotoquímica primaria, la interacción de estas con la alta irradiación solar no tuvo efecto alguno sobre los parámetros medidos.

## Introducción

Los árboles del género *Quercus*, en zonas de reforestación, presentan problemas en común en diferentes zonas del mundo (Fuchs *et al.*, 2000). Éstos programas de reforestación son exitosos de acuerdo al número de plántulas que sobreviven y que se convierten en árboles maduros (Ward *et al.*, 2000). La etapa de plántula en la regeneración de comunidades arbóreas, bajo condiciones naturales, es una etapa crítica del desarrollo de ésta, y el riesgo de enfrentar diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos es alto en esta etapa (Leiva and Fernández-Alés, 1998). En muchos ecosistemas, la exposición a sequía, alta irradiación solar y altas o bajas temperaturas, influyen la ecofisiología de las plantas y limitan su producción, cuando ocurre o se prolonga alguno de estos efectos, la capacidad para evadir o reparar los efectos del daño determinan la supervivencia de una especie (Filella *et al.*, 1998).

Las plantas son capaces de adaptar su fotosíntesis a las condiciones ambientales que prevalecen, dentro de un cierto rango (Gratani *et al.*, 2000). En condiciones naturales, la mayoría de las plantas reciben más luz solar de la que pueden usar para la fotosíntesis. Si el exceso de energía lumínica que ha sido absorbido por el aparato fotosintético no puede ser disipado rápidamente, puede reducir la eficiencia fotosintética y dar lugar a la fotoinhibición y a daño fotooxidativo del centro de reacción (Takahashi y Murata, 2008).

La mayor parte de los efectos causados por exceso de luz parecen estar localizados en el fotosistema II (Taiz y Zeiger, 2003). Sin embargo, el fotosistema II tiene una maquinaria de reparación eficiente y dinámica. La fotoinhibición es el resultado del balance entre la tasa de fotodaño al fotosistema II y la tasa de reparación (Aro *et al.*, 2005). La velocidad de reparación está estrictamente regulada de acuerdo al estado energético en el cloroplasto (Tikkanen *et al.*, 2013).

En contraste con el fotosistema II, el fotosistema I rara vez es dañado, sin embargo, cuando el daño ocurre es prácticamente irreversible; mientras que el daño al fotosistema II es linealmente dependiente de la intensidad de luz, el fotosistema I se ve dañado solo cuando el flujo de electrones del fotosistema II excede la capacidad de los aceptores de electrones del fotosistema I para acoplarse con los electrones (Tikkanen *et al.*, 2013). En

esta situación la proteína D1 protege el resto del fotosistema II contra el daño oxidativo en condiciones de exceso lumínico al mantenerse en un estado “apagado” (Aro *et al.*, 1993).

El ciclo de las xantofilas, que comprende los carotenoides violaxantina, anteraxantina y zeaxantina, está involucrado en la disipación del exceso de energía lumínica en la hoja. En alta intensidad lumínica la violaxantina es convertida a anteraxantina y finalmente a zeaxantina, la cual es la más eficiente en la disipación de calor. Los niveles de anteraxantina se mantienen constantes a lo largo del día, mientras que el contenido de zeaxantina aumenta a altas concentraciones de luz y disminuye en bajas. En las hojas que crecen bajo alta luz solar la concentración de zeaxantina y anteraxantina puede llegar a un 60% del total del pool del ciclo de las xantofilas, cuando las condiciones de irradiación son las máximas. Parte del exceso de energía absorbida por las membranas del tilacoide puede ser disipada como calor, previniendo un daño a la maquinaria fotosintética del cloroplasto (Taiz y Zeiger, 2003).

El potencial para un desequilibrio entre los procesos fotoquímicos, el transporte electrónico y el metabolismo, aumenta en condiciones de alta intensidad lumínica y bajo la combinación de otros tipos de estrés (Huner *et al.*, 1998 and Barber *et al.*, 1992). El estrés hídrico aumenta los niveles intracelulares de especies reactivas de oxígeno, lo cual inhibe la reparación del fotosistema II, siendo éste el principal factor que da lugar a la fotoinhibición (Takahashi y Murata, 2008). A medida que el estrés hídrico aumenta, la capacidad fotosintética del cloroplasto para utilizar la luz que está siendo absorbida disminuye, y la reducida conductancia estomatal decreta la capacidad para disipar la energía absorbida como calor latente y a asimilación de CO<sub>2</sub> (Salisbury, 1992). El estrés hídrico tiene efecto sobre la biomasa y rendimiento total de la planta, además de reducir el crecimiento del tallo (Turner, 1997).

Es importante el estudio del estrés lumínico e hídrico al que están sometidos los árboles del género *Quercus* en las zonas de reforestación, ya que éstos forman comunidades vegetales muy características de las zonas montañosas de México y, junto con los pinares, los encinos constituyen la mayor cubierta vegetal de áreas de clima templado y semihúmedo (Rzedowski, 1981).

## Antecedentes

### 1) *Fotosíntesis y respiración*

Los procesos de respiración y fotosíntesis son primordiales para la regulación energética en organismos fotoautótrofos, y en las plantas se encuentran compartimentalizados en los organelos celulares: mitocondrias y cloroplastos, respectivamente. En los tejidos fotosintéticos estos procesos mantienen una estrecha relación para balancear los equivalentes reductores y la carga energética de la célula durante la asimilación de carbono y amonio (Raghavendra & Padmasree, 2003).

El atrapamiento eficiente de la energía lumínica por medio de los sistemas fotosintéticos es crítico para el éxito de la fotosíntesis (H. van Amerongen *et al.*, 2000). Ésta comienza con la absorción de luz por las moléculas de la clorofila (Admas *et al.*, 1990); consiste principalmente de dos juegos de reacciones, una en la que la energía electromagnética es absorbida por los pigmentos y convertida en energía química en forma de ATP y NADPH; y las reacciones de fijación de carbono, donde se utilizan el ATP y NADPH para producir carbohidratos a partir de la fijación del CO<sub>2</sub> atmosférico. Debido a que las reacciones de luz y la de CO<sub>2</sub> exhiben diferente sensibilidad a los factores ambientales como la luz y la disponibilidad de agua, la producción de ATP y NADPH por las reacciones luminosas y el consumo de estos metabolitos por las reacciones del carbono no siempre coinciden (Ögren *et al.*, 1984; Huner *et al.*, 1996; Ensminger *et al.*, 2006).

### 2) *Mecanismos de tolerancia*

Los árboles del género *Quercus*, en zonas de reforestación, usualmente están sometidos a estrés hídrico y a niveles de alta intensidad lumínica. Las plantas han evolucionado con mecanismos para soportar los efectos de cada uno de estos tipos de estrés y la combinación de ellos. Se ha observado que dentro de estos mecanismos se encuentra una fina y sincronizada regulación estomática, así como mayor inversión energética en la biomasa de raíz para mejorar el balance hídrico y la eficiencia fotosintética del uso del agua (Brodribb *et al.*, 2009; Markesteijn y Porter 2009; Flexas *et al.*, 2012).

Debido a que es crucial mantener el estado redox en la célula, las plantas bajo niveles de alta intensidad lumínica que crecen en estrés hídrico, alcanzan una mayor eficiencia fotoquímica y un potencial de excitación del PSII más bajo que aquellas que se desarrollan en sombra (Ensminger *et al.*, 2000; Obata and Fernie, 2012). Minagawa en 2011 demostró que se dan cambios estructurales a nivel del PSII, del LHCII y una organización superior en las membranas tilacoidales.

La división eficiente de energía lumínica es alcanzada al incrementar la inversión en nitrógeno para los componentes de la cadena transportadora de electrones y la Rubisco (Niinemets, 2007), así como en un mayor tamaño del pool de xantofilas y capacidad de depoxidación (Demmig-Adams y Adams, 1992; García-Plazaola *et al.*, 2012) y a través de la disipación por calor, que puede ser monitoreada como decaimiento no fotoquímico, o NPQ, el cual es un mecanismo foto-protectivo del PSII (Briantais *et al.*, 1979; Demmig & Bjorkman, 1987). Adicionalmente, la fotorrespiración es un regulador seguro que consume oportunamente más electrones cuando los estomas están cerrados bajo estrés hídrico y de alta intensidad lumínica, previniendo daño oxidativo (Voss *et al.*, 2013). Sin embargo, un incremento en la fotorrespiración implica la disminución en la eficiencia de asimilación del carbono, en la eficiencia de la síntesis de biomasa, lo que da como resultado una baja en la productividad de la planta (Zelitch, 1973; Aliyev, 2012; Weber and Bauwe, 2013).

Otro mecanismo efectivo utilizado por las plantas para regular la absorción de luz, consiste en el ajuste de la concentración de pigmentos de clorofila en la hoja. La relación entre el contenido de clorofila y la absorción de energía es no-lineal porque el incremento en la absorción de luz por unidad de clorofila disminuye cuando el contenido de clorofila es alto (Gitelson *et al.*, 1998).

### *3) Efectos generales del estrés lumínico e hídrico y sus interacciones*

El estrés hídrico causa alteraciones en varias características fisiológicas, bioquímicas y morfológicas en las plantas (Trewavas *et al.*, 1991; Auirrezabal *et al.*, 2006). El estrés típicamente resulta en el desarrollo de una reducida área foliar, en un bajo crecimiento del tallo e incremento en el crecimiento de la raíz. Entre los cambios fisiológicos y bioquímicos se ha observado pérdida de la turgencia, modificaciones en la membrana citoplasmática a

nivel de lípidos, síntesis de solutos osmoprotectores e inhibición de la fotosíntesis (Daugherty *et al.*, 1994; Chaves *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2013).

En deficiencia de agua se presenta un problema de déficit hídrico fisiológico, que enmarca la afectación al crecimiento por la disminución de la conductancia estomática (Chaves *et al.*, 2009). Flexas *et al.* (2004) señalan que esta disminución en el crecimiento se debe más bien a una difusión deficiente de CO<sub>2</sub> hacia las células del mesófilo, más que a la capacidad bioquímica de asimilación. A medida que el estrés hídrico se vuelve más severo, el mayor impacto se debe al daño en los fotosistemas causados por el exceso de luz o por el deterioro de la fosforilación, por la actividad de la Rubisco, y la regeneración de ribulosa-bifosfato (Parry *et al.*, 2002; Bota *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2013).

#### *4) Efectos del estrés lumínico e hídrico sobre la fotosíntesis y respiración*

En 1997 Giardi *et al.* demostraron que cuando existe un estrés hídrico moderado en las hojas, la fotosíntesis disminuye a consecuencia del cierre estomático, pero sin ninguna baja significativa en el rendimiento cuántico ni en la capacidad máxima del mesófilo. Cuando la sequía es prolongada y la deshidratación celular es marcada, o cuando hay interacciones con otros tipos de estrés, la transferencia de electrones y la fijación de CO<sub>2</sub> se ven afectadas, por lo tanto el aparato fotosintético parece ser relativamente resistente a deshidratación, sin embargo, el estrés hídrico predispone a las membranas fotosintéticas a la fotoinhibición (Giardi *et al.*, 1996).

Bajo la combinación del estrés lumínico por alta intensidad lumínica y de estrés hídrico por falta de agua, las hojas acumulan especies reactivas de oxígeno o ROS (Paul & Foyer, 2001; Flexas & Medrano, 2002). En 2012 Li & Ma observaron en hojas de manzana que cuando las ROS no pueden ser controladas por los sistemas antioxidantes ocurre un daño foto-oxidativo.

#### *5) Efectos del estrés lumínico e hídrico sobre los eventos fotoquímicos de la fotosíntesis*

Los niveles altos de irradiación, en plantas, favorecen la formación de intermediarios redox altamente reactivos y fotoinhibición del PSII, éste daño se le asocia comúnmente a la

formación del oxígeno singulete  $^1\text{O}_2$  en el centro de reacción del PSII (Barber & Anderson, 1992; Hideg *et al.*, 1998)

Un desbalance entre la fijación de  $\text{CO}_2$  respecto a la absorción de luz por los complejos fotosintéticos conducen a modificaciones subsecuentes en éstos (Dajic, 2006). De tal manera que para mantener un flujo electrónico estable a nivel de los sistemas colectores de luz, la disipación de una fracción de esa energía en forma de calor es un proceso muy importante para impedir el fotodaño (Perales, 2001).

#### *6) La fluorescencia de la clorofila a en el estudio de la fotosíntesis*

La medición de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* se ha convertido en una herramienta útil para analizar parámetros de eficiencia fotoquímica de organismos fotosintéticos oxigénicos. El análisis de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II del aparato fotosintético en plantas, hace posible caracterizar los efectos y modos de acción de diferentes tipos de estrés ambiental (González *et al.*, 2008).

La fluorescencia de la clorofila *a* es un proceso que H. Kautsky y A. Hirsch relacionaron con la fotosíntesis en 1931. Estudios posteriores demostraron que este fenómeno es capaz de brindar una gran cantidad de información acerca de la estructura y función del aparato fotosintético, específicamente del fotosistema II (PSII) y del proceso de transporte de electrones a lo largo de la cadena embebida en las membranas tilacoidales; además, la fluorescencia de la clorofila *a* es una prueba no invasiva, rápida y altamente sensible (Govindjee, 1995). El fotosistema I (PSI) tiene una contribución mínima de emisión de fluorescencia frente al total registrado a temperatura ambiente, por lo que la mayoría de los protocolos utilizados para medir la fluorescencia de la clorofila *a* lo consideran despreciable (Pfündel *et al.*, 2013).

La fotosíntesis genera una señal óptica que en adición a la radiación fotosintéticamente activa, es sensible también a la eficiencia del uso de la luz, esta señal es la fluorescencia de la clorofila *a*, la fluorescencia son fotones de luz roja y rojo-lejano que son emitidos por los pigmentos de la clorofila *a*, nanosegundos después de la absorción de luz (Porcar-Castell *et al.*, 2014). El proceso físico de la fluorescencia es resultado de la energización a partir de la absorción de la energía lumínica. Dicho proceso consiste en la emisión de energía electromagnética (fotones) desde un estado excitado S1 hasta un estado basal S0

de la molécula (Figura 1). Además, dicha emisión tiene una longitud de onda mayor (685 nm) que aquella que excita a la molécula de clorofila, por lo que puede ser discriminada y medida con relativa facilidad.

Dentro de los complejos proteicos tilacoidales, las moléculas de clorofila, luego de ser excitadas, se pueden relajar mediante tres procesos: 1) Liberación de calor, 2) emisión de fluorescencia y 3) transferencia de energía por resonancia inductiva (transferencia de excitones) o separación de cargas, es decir, la utilización fotoquímica de la energía (Figura 1). Estos procesos compiten entre sí a través de sus constantes de velocidad y ambiente redox, lo que significa que se modifican proporcionalmente de acuerdo a la forma en que es utilizada la energía. Estudios más finos han indicado que el porcentaje de energía que se libera como fluorescencia se encuentra entre el 0.5 al 7 % de la energía absorbida, dependiendo si predomina la separación de cargas o la liberación como calor respectivamente. En otras palabras, la utilización fotoquímica de la energía resulta inversamente proporcional a los otros dos procesos.

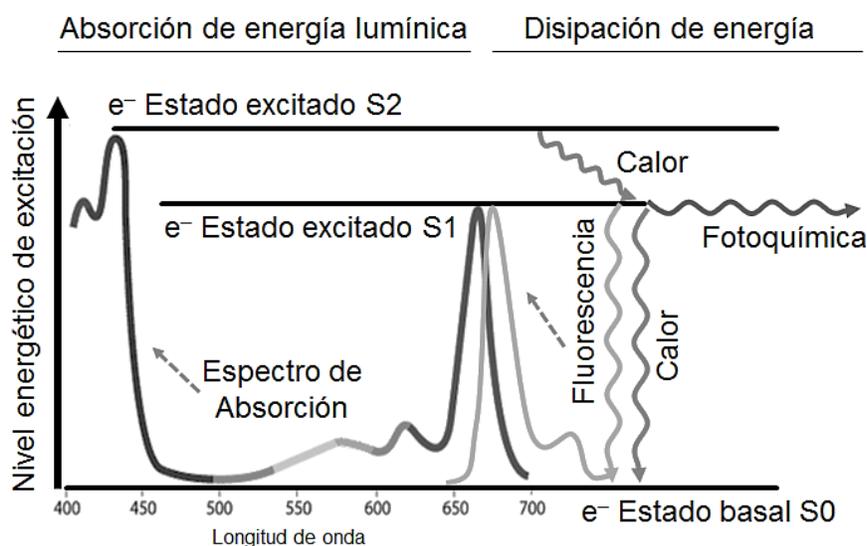


Figura 1. Fenómeno de absorción de energía lumínica por parte de la clorofila *a* y rutas de disipación energética a partir de los estados excitados S1 y S2 de un electrón posterior a la absorción de luz por parte de la molécula de clorofila *a*.

En el ámbito metodológico se han desarrollado dos técnicas para estudiar la cinética de emisión de fluorescencia que arroja información del fenómeno fotosintético. La primera,

conocida como fluorescencia lenta o modulada, se basa en la aplicación de pulsos de luz en muestras con una condición de luz actínica dada y permite el estudio de la utilización energética, especialmente para estudios acerca del decaimiento fotoquímico y no fotoquímico. La segunda, técnica llamada fluorescencia rápida o polifásica, consiste en la aplicación de un pulso único de luz saturante en muestras preacondicionadas a la obscuridad, que permite estudiar los flujos energéticos desde el arranque del transporte electrónico fotosintético y hasta un segundo después.

### 6.1) La prueba JIP

Al observar un trazo de fluorescencia es esencial tener presente dos cosas: primero, que la señal de fluorescencia proviene únicamente de la clorofila *a*, y segundo, que el nivel del registro de la señal indica el estado en que se encuentran los centros de reacción. Cuando se habla de un centro de reacción abierto, significa que éste es capaz de aceptar energía para realizar la separación de cargas, mientras que un centro de reacción cerrado es aquel que ha absorbido energía y no puede aceptar más hasta que recupere su electrón por la oxidación del agua o regrese a su estado basal (Figura 2). Con lo anterior se puede afirmar que si a una muestra fotosintética adaptada a la obscuridad se le aplica un pulso de luz intenso pero breve, se inducirá el cierre momentáneo de los centros de reacción.

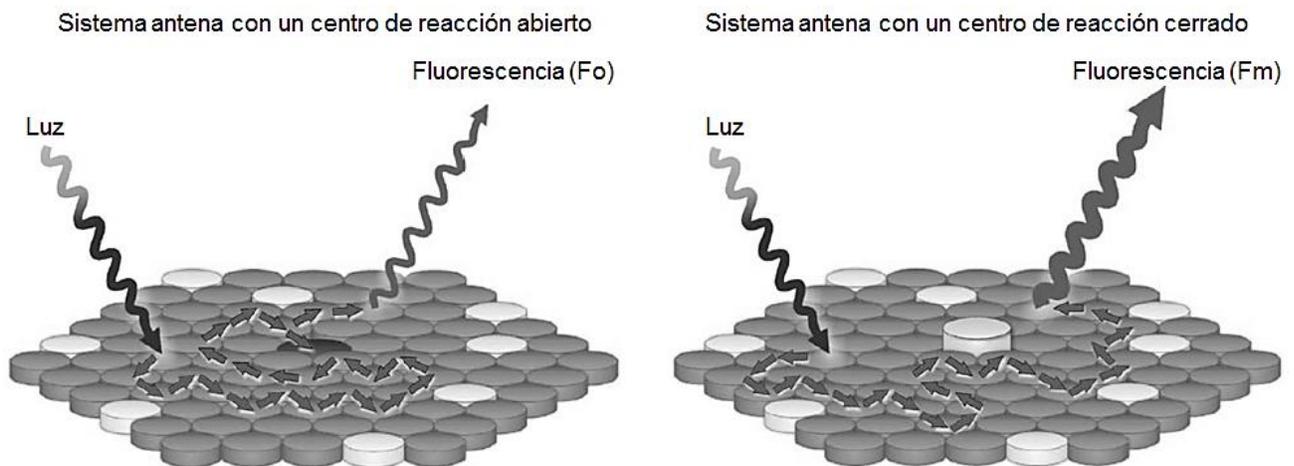


Figura 2. Efecto del estado de los centros de reacción sobre la intensidad de la señal de fluorescencia de la clorofila *a*. Se representa el sistema de antenas del aparato fotosintético como cilindros color gris que presentan el fenómeno de transferencia por resonancia inductiva de excitones durante la absorción de luz. El centro de reacción se representa al centro de la imagen como un cilindro

oscuro cuando está abierto, y como un cilindro gris claro y elevado respecto del plano de las antenas, cuando está cerrado y no puede absorber más excitones.  $F_o$ : fluorescencia mínima,  $F_m$ : fluorescencia máxima (Govindjee, 2010).

Cuando una muestra fotosintética acondicionada a la obscuridad se irradia con una luz intensa, se observa un incremento instantáneo en la emisión de fluorescencia de la clorofila *a*, que comienza a disminuir luego de algunos segundos (Figura 3A). Con una mayor resolución de tiempo, durante dicho incremento se revelan cuatro inflexiones que se presentan en intervalos de tiempo característicos (Figura 3B): la primera llamada O, es la señal de fluorescencia mínima al inicio del registro (50  $\mu$ s) e indica que todos los centros de reacción se encuentran abiertos; la segunda, llamada J (2 ms), está relacionada a la reducción momentánea de la poza de quinonas A (QA); la tercera, llamada I (20 ms), se relaciona a la reducción momentánea de la poza de QA y quinonas B (QB); y la cuarta, llamada P (aproximadamente a los 300 ms), es el punto máximo de fluorescencia, cuando todos los componentes de la cadena, y por lo tanto los centros de reacción, se encuentran reducidos (Figura 3C).

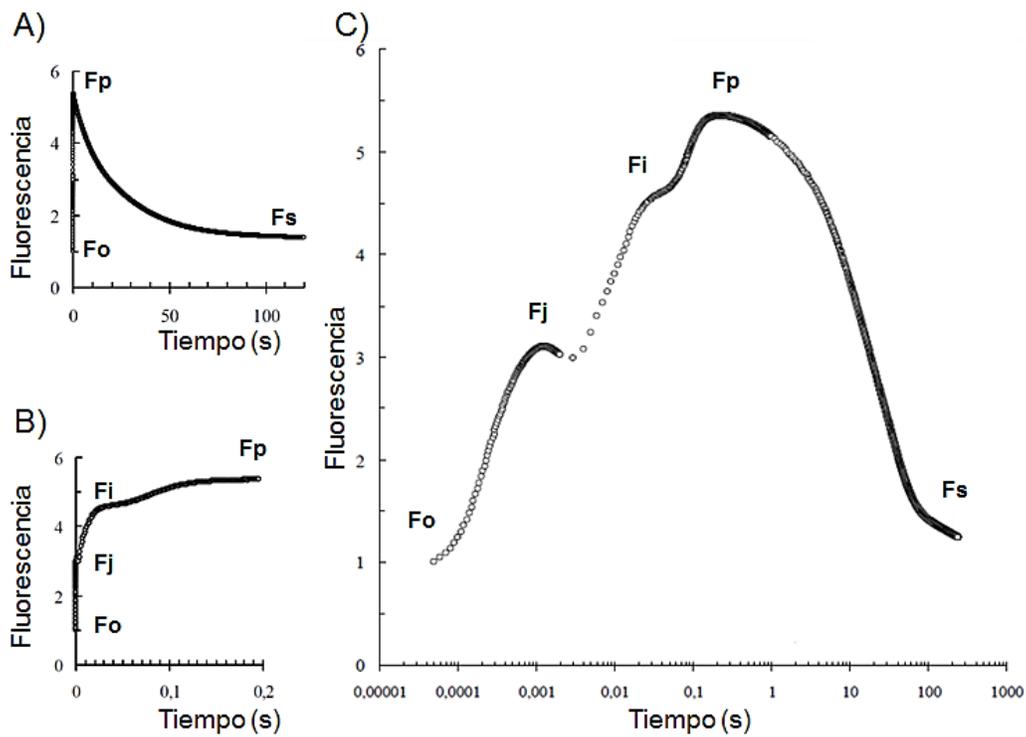


Figura 3. Efecto Kautsky de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a*. A) Incremento en la emisión de fluorescencia cuando una muestra acondicionada a la obscuridad se irradia con luz actínica intensa. B) Ampliación del incremento instantáneo de la emisión de fluorescencia durante los primeros 0.2 s. C) Registro de la emisión de fluorescencia graficado en tiempo logarítmico. En cada gráfica se indica el nombre de la inflexión observada con una mayor resolución de tiempo durante el registro. Las unidades de fluorescencia son relativas al valor de  $F_0$ .

A partir de relaciones matemáticas, se ha desarrollado un modelo de flujos de energía en biomembranas que relaciona diversos parámetros de la cinética polifásica. Éste considera que la energía que llega a las antenas es absorbida (ABS), luego atrapada por los centros de reacción (TR) o disipada como calor (DI), y luego transportada por los demás componentes de la cadena (ET; Figura 4) a partir del primer aceptor de electrones estable ( $Q_A$ ). Cuando estos flujos energéticos son referidos a los centros de reacción (RC) se conocen como flujos específicos de energía. Sin embargo, también es posible expresar los flujos energéticos como rendimientos cuánticos ( $\phi$ ), considerando que el rendimiento energético se obtiene de la proporción de energía utilizada en algún proceso en relación a la energía total que ingresó al sistema; es decir, la ABS.

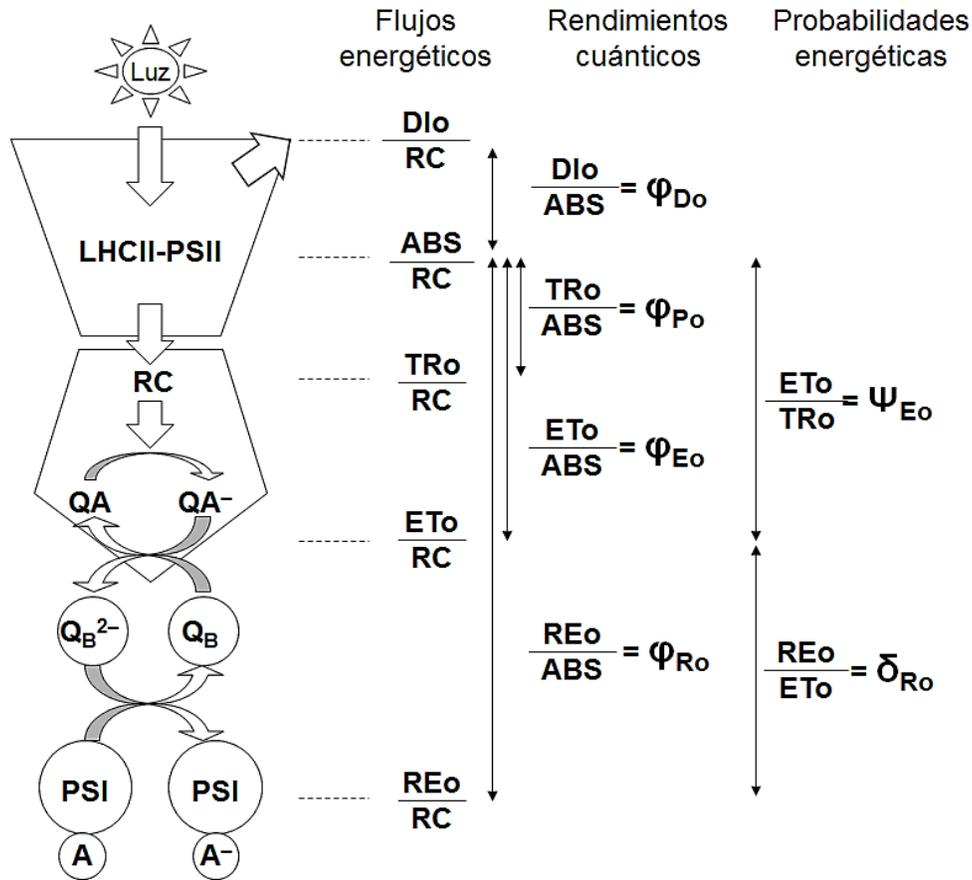


Figura 4. Modelo de flujos energéticos en un sistema fotosintético de organismos eucariontes. El esquema con figuras geométricas de la izquierda indica la ruta que la energía de la luz sigue una vez que fue absorbida por el sistema antena (LHCII-PSII). Una fracción es disipada como calor, y otra es transferida a los centros de reacción (RC) para la reducción del primer aceptor de electrones (QA). La energía contenida en la transferencia electrónica llega a los acarreadores intermedios (QB) y luego de pasar por el complejo de citocromo  $b_6f$  y la plastocianina (no mostrados), llegan al fotosistema uno (PSI) que dona los electrones a los aceptores finales ferredoxina y  $NADP^+$  (A). Se indica con líneas punteadas los sitios considerados para los flujos energéticos por centro de reacción. Las flechas verticales muestran la relación de los flujos energéticos con los rendimientos cuánticos y las probabilidades energéticas. ABS: absorción de luz, DI: disipación energética, TR: atrapamiento de excitones, ET: transporte electrónico, RE: reducción de aceptores finales. El

subíndice “o” indica que el parámetro se obtiene a partir del tiempo cero en el paso de la obscuridad a la luz, o utilizando como base el valor de  $F_0$ .

En base a lo anterior, la eficiencia cuántica máxima para la fotoquímica primaria ( $\phi_{Po}$ ) hace referencia a la energía que fue atrapada en los centros de reacción del total de energía absorbida (TR/ABS). El producto cuántico máximo de disipación energética como calor ( $\phi_{Do}$ ) indica el flujo de energía disipada respecto a la energía absorbida (DI/ABS); por su parte, la eficiencia con la que un excitón mueve un electrón más allá de QA ( $\phi_{Eo}$ ) es la fracción de energía absorbida que se utiliza en el transporte (ET/ABS). También se puede calcular la probabilidad de que un excitón mueva un electrón más allá de QA ( $\Psi_o$ ), como la fracción de energía atrapada en los centros de reacción y que se utiliza para realizar transporte electrónico (ET/TR; Figura 4).

Para obtener los parámetros mencionados en el párrafo anterior a partir de las señales de fluorescencia de la curva polifásica, se puede consultar la Tabla 1, donde se indican las operaciones algebraicas para obtener cada parámetro de la prueba JIP.

### 6.2) La prueba de fluorimetría modulada

La otra técnica con que se ha estudiado la fluorescencia de la clorofila *a*, está basada en la utilización de pulsos de luz modulada para obtener la señal de fluorescencia, además de pulsos de luz saturante bajo una condición de irradiación con luz actínica (Figura 5). En este escenario, la señal de fluorescencia en presencia de luz actínica refleja la integración de la actividad fotoquímica bajo una condición de luz actínica definida, y el pulso de luz saturante permite obtener la señal de fluorescencia durante el cierre momentáneo de los centros de reacción que participan en dicha actividad. Con estos datos se puede estudiar la fracción energética empleada en trabajo fotoquímico y aquella fracción disipada por mecanismos no fotoquímicos. En los primeros se encuentra la utilización eficiente de la energía de excitación en los fotosistemas dos para realizar la separación de carga, mientras que los segundos dependen de la ruta que siga la energía de excitación para la relajación de la clorofila *a* hacia su estado basal  $S_0$  (Figura 1), de los cuales la liberación en forma de calor es el principal (Pfündel *et al.*, 2013).

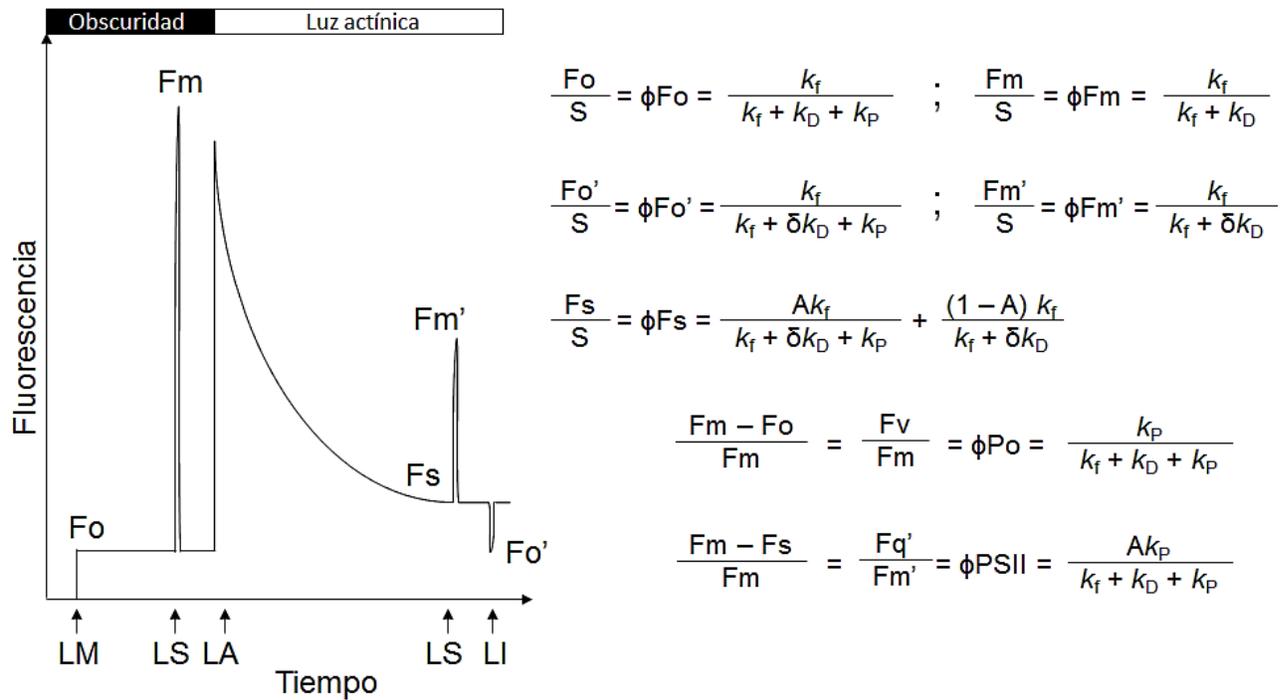


Figura 5. Protocolo para el análisis del decaimiento de la fluorescencia de la clorofila *a* mediante pulsos de luz modulada. La muestra fotosintética se mantiene en obscuridad y se comienza el registro al encender la luz modulada (LM) para obtener el valor de fluorescencia mínima ( $F_o$ ) y enseguida se aplica un pulso de luz saturante (LS) para obtener la fluorescencia máxima ( $F_m$ ). Posteriormente se irradia con luz actínica (LA) hasta obtener un valor estable de fluorescencia ( $F_s$ ), luego se aplica un nuevo pulso de luz saturante (LS) para obtener el valor de fluorescencia máxima a la luz ( $F_m'$ ), y enseguida se apaga la luz actínica para aplicar un pulso de luz infrarroja (LI) con el que se obtiene el valor de fluorescencia mínima a la luz ( $F_o'$ ). De acuerdo a la teoría de los rendimientos energéticos, utilizando un factor de sensibilidad relacionado a la respuesta del instrumento ( $S$ ), cada valor de fluorescencia medido tiene su correspondiente rendimiento energético ( $\phi$ ). Dado que la energía absorbida por la clorofila puede ser disipado mediante tres rutas (por fluorescencia ( $f$ ), térmica ( $D$ ) y fotoquímica ( $P$ ), el resultante rendimiento energético para cada valor de fluorescencia corresponde a la relación de la constante de disipación por fluorescencia ( $k_f$ ) entre la suma de las constantes de disipación que participan en cada evento ( $k_{f, D, P}$ ). En el caso de los parámetros medidos bajo luz actínica,

la constante de disipación térmica contiene un factor de disipación ( $\delta$ ) asumiendo que sólo la disipación térmica varía durante el paso de una condición de obscuridad hacia una de luz actínica. Además, bajo las condiciones de luz actínica el rendimiento de fluorescencia estable contiene un parámetro que indica la fracción de moléculasceptoras primarias que son oxidables bajo esa condición lumínica (A).

El análisis de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* consiste de modelos que consideran la estructura del fotosistema dos, con sus antenas, como unidades individuales o como unidades interconectadas, conocidos como modelo de “*puddle*” o “*lake*”, respectivamente. Ambos modelos difieren en la forma en cómo las antenas logran transferir la energía obtenida de la luz. Pese a lo anterior se ha demostrado que parámetros como el rendimiento cuántico máximo del PSII ( $F_v/F_m$ ; Kitajima y Butler, 1975), o el rendimiento cuántico operacional del PSII en una condición lumínica dada ( $F_q'/F_m'$ ; Kramer *et al.*, 2004), son concordantes con ambos modelos, tanto en el de las unidades independientes como en las interconectadas.

### 7) Modelo biológico

El género *Quercus* se distribuye ampliamente a lo largo del territorio mexicano. Representa un conjunto de arbustos y de árboles con gran valor ecológico, económico y cultural. México es el mayor centro de riqueza y evolución de encinos en el continente americano, posee alrededor de 161 especies, de las cuales 109 son endémicas, es decir, el 68% de los encinos del continente americano solo se encuentran en México. Los encinos se desarrollan ampliamente y de manera natural en los bosques templados, bosques tropicales, semitropicales y en los matorrales de climas secos del norte, es por eso que constituyen el principal tipo de plantas de los sistemas vegetales montañosos de México, es decir, de los bosques templados, de encino, pino-encino, mesófilo de montaña y, ocasionalmente, matorrales y bosques tropicales caducifolios.

Los bosques de encinos se encuentran ampliamente distribuidos en los macizos montañosos de México, y cubren, aproximadamente 5.5% de la superficie total del país, hallándose la mayor diversidad de especies en un intervalo altitudinal que varía entre los

1,200 a 2,800 metros sobre el nivel del mar, aunque es posible encontrar especies desde los 200 hasta los 3,500 m de altitud (Arizaga *et al.*, 2009).

El encino *Quercus crassipes* es un árbol endémico mexicano que se distribuye en los estados de Colima, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro y Tlaxcala. Tiene un tamaño de 10 a 35 m de altura y con diámetro del tronco de 15 a 100 cm, la corteza es pardo-oscuro con placas alargadas. Presenta hojas elípticas o lanceoladas de 2.5 a 14 cm de largo por 0.6 a 4.0 cm de ancho; margen revoluto; haz verde grisáceo o verde oscuro y lustroso; envés amarillento grisáceo cubierto con un tomento persistente. Su fruto es bianual, solitario o en pares; bellota ovoide de 10 a 21 mm de largo por 12 a 14 mm de diámetro.

La comprensión de los eventos fotoquímicos y respiratorios son de interés ya que son reflejo de los mecanismos de resistencia de las plantas frente a los distintos grados de presencia de un factor de estrés.

## **Objetivos**

### *Objetivo General*

Evaluar el efecto del estrés lumínico e hídrico en la actividad fotosintética de plántulas de *Quercus crassipes*.

### *Objetivos Particulares*

Evaluar el estrés lumínico e hídrico producido en la estructura y función del fotosistema II.

Evaluar el efecto de la combinación del estrés lumínico e hídrico sobre la actividad fotoquímica de plántulas de *Quercus crassipes*.

Medir la actividad del transporte electrónico fotosintético en las plántulas de *Quercus crassipes* sometidas a estrés lumínico e hídrico.

Evaluar el efecto en la concentración de clorofila a y b.

Evaluar la actividad fotosintética.

## Materiales y métodos

Plantas de *Quercus crassipes* de 6 meses de edad, se mantuvieron en macetas que contenían una mezcla de agrolita, peat moss y tierra negra (1:1:2 v:v:v) en condiciones de invernadero y 80% de humedad aprovechable en el suelo (Aguilera, 1996) regadas con agua destilada y con solución Hogland por un mes hasta el inicio de los tratamientos.

Cuatro grupos de catorce plantas fueron sometidas a dos condiciones de luz y humedad de suelo. El control (RI) consistirá de riego a 80% de humedad aprovechable (HA) y luz en condiciones de invernadero (aproximadamente 40% de luz solar). El grupo SI se tuvo a una condición de 30% de HA, en condiciones de invernadero. El grupo RE consistió de condiciones naturales de luz solar y riego a 80% de HA, además la combinación de los efectos se evaluó a 30% de HA y condiciones naturales de luz solar resultando el grupo SE; las variables utilizadas en este estudio 80% de HA, 30% de HA, luz solar y luz en invernadero dieron lugar a las literales R, S, E, I, respectivamente.

### *Emisión de Fluorescencia de la clorofila a*

Se registró la actividad fotosintética un día por semana en lapsos de 2 horas a partir de las 8 am hasta las 8pm, por un periodo de 6 semanas a través de la emisión de fluorescencia de clorofila *a* del fotosistema II con el medidor Handy PEA Hansatech (González *et al.*, 2008). Para lo anterior se preconditionaron a la obscuridad las tres hojas más jóvenes de cada planta durante 30 minutos y en estas se realizó la medición.

Se obtuvieron los datos de la cinética de inducción de fluorescencia de la clorofila *a* (Strasser *et al.* 2000) procesados con el programa Handy PEA. Posteriormente los datos se analizaron mediante la prueba JIP (Strasser y Strasser, 1995) con el programa Biolyzer 2.0, para obtener los parámetros enlistados en la Tabla 1.

### *Rendimiento cuántico*

El registro del rendimiento cuántico se obtuvo con el PAR-FluorPen FP 100, midiendo las tres hojas más jóvenes de cada planta un día por semana en lapsos de 2 horas a partir de

las 8 am hasta las 8pm, por un periodo de 6 semanas en las condiciones de luz ya mencionadas.

Los datos del rendimiento cuántico ( $\Phi_{PSII}$ ) fueron procesados para obtener ETR relativo con la siguiente fórmula:

$$ETR = PAR * \Phi_{PSII}$$

(Maxwell *et al.*, 2000), tomando como luz fotosintéticamente activa (PAR) la media de la concentración lumínica a la que estuvieron expuestas las plantas a lo largo del tratamiento durante las horas de medición.

#### *Concentración de clorofilas*

Se midió la concentración de clorofilas en los discos de hoja de 10 cm<sup>2</sup> obtenidos anteriormente, a través de la extracción con acetona al 80%, midiendo los sobrenadantes de los macerados ajustados a 10 mL. de acetona al 80% en espectrofotómetro a 663nm y 646nm, para clorofila a y b respectivamente (González *et al.*, 2008).

El cálculo de la concentración de los pigmentos se realizó según lo establecido por Wellburn en 1994. Las concentraciones de los pigmentos se obtuvieron como  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  en la solución de la celda del espectrofotómetro de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$[\text{Clorofila } a] = 12.21 \text{ Abs}_{663} - 2.86 \text{ Abs}_{646}$$

$$[\text{Clorofila } b] = 20.13 \text{ Abs}_{646} - 2.86 \text{ Abs}_{663}$$

Tabla 1. Definición de los parámetros utilizados en el análisis JIP de la cinética polifásica de la fluorescencia de la clorofila *a* (Strasser, 1981; Strasser y Strasser, 1995; Strasser *et al.*, 2001).

Término	Fórmula	Definición
F <sub>o</sub>	= F <sub>50μs</sub>	Señal de fluorescencia cuando todos los centros de reacción se encuentran abiertos
F <sub>p</sub>	= F <sub>m</sub>	Señal de fluorescencia máxima, se registra cuando todos los componentes del transporte de electrones están reducidos
F <sub>k</sub>	= F <sub>300μs</sub>	Fluorescencia registrada cuando los electrones fluyen desde el lado donador hacia el centro de reacción del PSII
F <sub>j</sub>	= F <sub>2ms</sub>	Fluorescencia registrada cuando el pool de QA se reduce completa pero momentáneamente a los 2 milisegundos
F <sub>v</sub>	= F <sub>m</sub> -F <sub>o</sub>	Fluorescencia variable
V <sub>j</sub>	= (F <sub>j</sub> -F <sub>o</sub> )/(F <sub>m</sub> -F <sub>o</sub> )	Fluorescencia variable relativa a 2 ms
M <sub>o</sub>	= (TR <sub>o</sub> /RC) - (ET <sub>o</sub> /RC) = V <sub>j</sub> (TR <sub>o</sub> /RC) = 4(F <sub>k</sub> -F <sub>o</sub> )/(F <sub>m</sub> -F <sub>o</sub> )	Velocidad inicial del cierre de los centros de reacción
TR <sub>o</sub> /RC	= M <sub>o</sub> DCMU =	Flujo de energía atrapada por centro de reacción

	$Mo/Vj$ $= 4(Fk-Fo) / (Fj-Fo)$	
$ETo/RC$	$= (TRo/RC)(1-Vj)$ $= (Mo/Vj)(\Psi_o)$	Flujo de transporte de energía por centro de reacción
$\Psi_{Eo}$	$=$ $(ETo/RC)/(TRo/RC)$ $=1-Vj$	Eficiencia con la que un excitón atrapado mueve un electrón después de la quinona A
$\Phi_{Po}$	$= TRo/ABS =$ $Fv/Fm$	Rendimiento cuántico máximo para la fotoquímica primaria
$\Phi_{Eo}$	$= (\Phi_{Po})(\Psi_o)$ $=(Fv/Fm)(1-Vj)$	Probabilidad de que un excitón mueva un electrón después de la QA

Tabla 1 *continuación.*

Término	Fórmula	Definición
	$= (TRo/RC) /$	
$ABS/RC$	$(TRo/ABS)$ $= (Mo/Vj) / (Fv/Fm)$	Flujo de energía absorbida por centro de reacción

	$= (ABS/RC) - (TRo/RC)$	
$DIo/RC$	$= ((Mo/Vj)/(Fv/Fm)) - (Mo/Vj)$	Flujo de energía disipada por centro de reacción, es decir la energía absorbida que no fue atrapada por los centros de reacción.
$RC/ABS$	$= 1/(ABS/RC)$	Número de centros de reacción en los que se absorbe el flujo de energía
$ABS/CS_{Chl}$	$= Chl/CS$	Cantidad de clorofila por sección cruzada
$RC/CS$	$= (ABS/CS_{Chl}) / (ABS/RC)$	Densidad de centros de reacción por sección transversal
$TRo/CS$	$= (TRo/RC) (RC/CS)$	Captura de excitones por sección transversal
$ETo/CS$	$= (ETo/RC) (RC/CS)$	Transporte de electrones por sección transversal
$\Phi_{Do}$	$= (DIo/RC)/(ABS/RC) = 1 - (Fv/Fm)$ $= [((Mo/Vj)/(Fv/Fm)) - (Mo/Vj)] / (Mo/Vj)$	Probabilidad de disipación energética en forma de calor
$PI_{ABS}$	$= (\gamma RC/1 - \gamma RC) \cdot [\phi_{Po}/(1 - \phi_{Po})] \cdot [\Psi o/(1 - \Psi o)]$	Índice de funcionamiento
$PI_{TOTAL}$	$= (\gamma RC/1 - \gamma RC) \cdot [\phi_{Po}/(1 - \phi_{Po})] \cdot [\Psi o/(1 - \Psi o)] \cdot [\delta Ro/(1 - \delta Ro)]$ $= (RC/ABS) (TRo/ABS -$	Índice de funcionamiento para el transporte electrónico hacia los aceptores finales del fotosistema uno

---


$$\frac{\text{TRo}}{\text{ETo}} \left( \frac{\text{ETo}}{\text{TRo}} - \text{ETo} \right)$$

$$\left( \frac{\text{REo}}{\text{ETo}} - \text{REo} \right)$$


---

$$= \log (P_{I_{\text{ABS}}})$$

$$= \log (RC/ABS) + \log [\varphi_{\text{Po}} / (1 - \varphi_{\text{Po}})] + \log [\Psi_{\text{o}} / (1 - \Psi_{\text{o}})]$$

Fuerza de conducción de la fotosíntesis

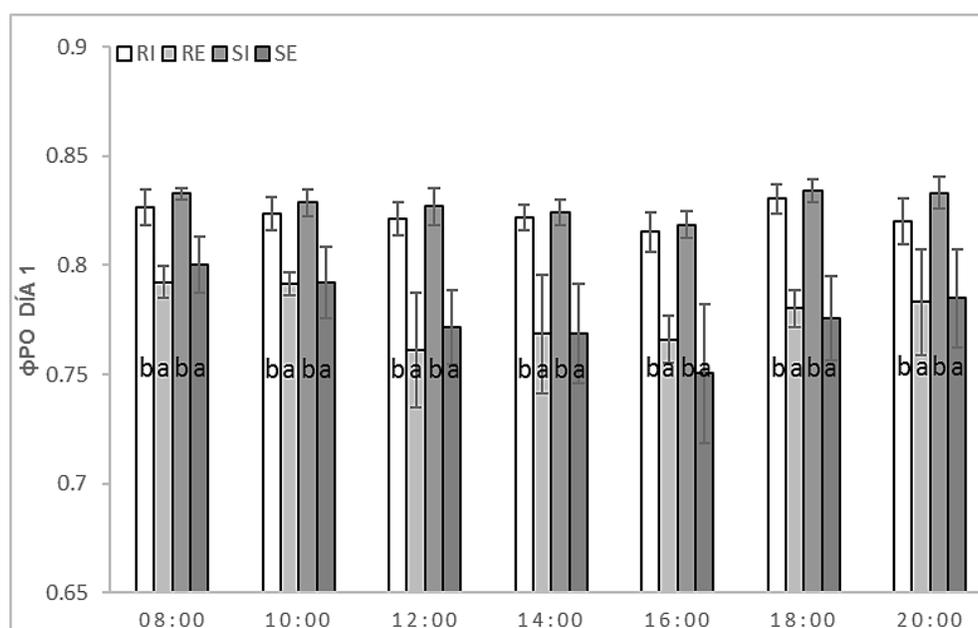
---

**Tratamiento estadístico**

Los resultados se expresaron como el promedio de las mediciones llevadas a cabo. Se aplicó un análisis de varianza de un factor (prueba de ANOVA) así como una prueba de Tukey con el paquete estadístico R.

## Resultados y análisis

La medición de fluorescencia polifásica y su posterior análisis (Figura 1 A, B y C) demostraron que el rendimiento cuántico máximo para el fotosistema dos (PSII) disminuyó significativamente en los dos tratamientos expuestos a condiciones de luz solar natural (RE y SE) respecto al control, sin mostrar diferencias significativas entre las concentraciones de humedad aprovechable (HA) en estos.



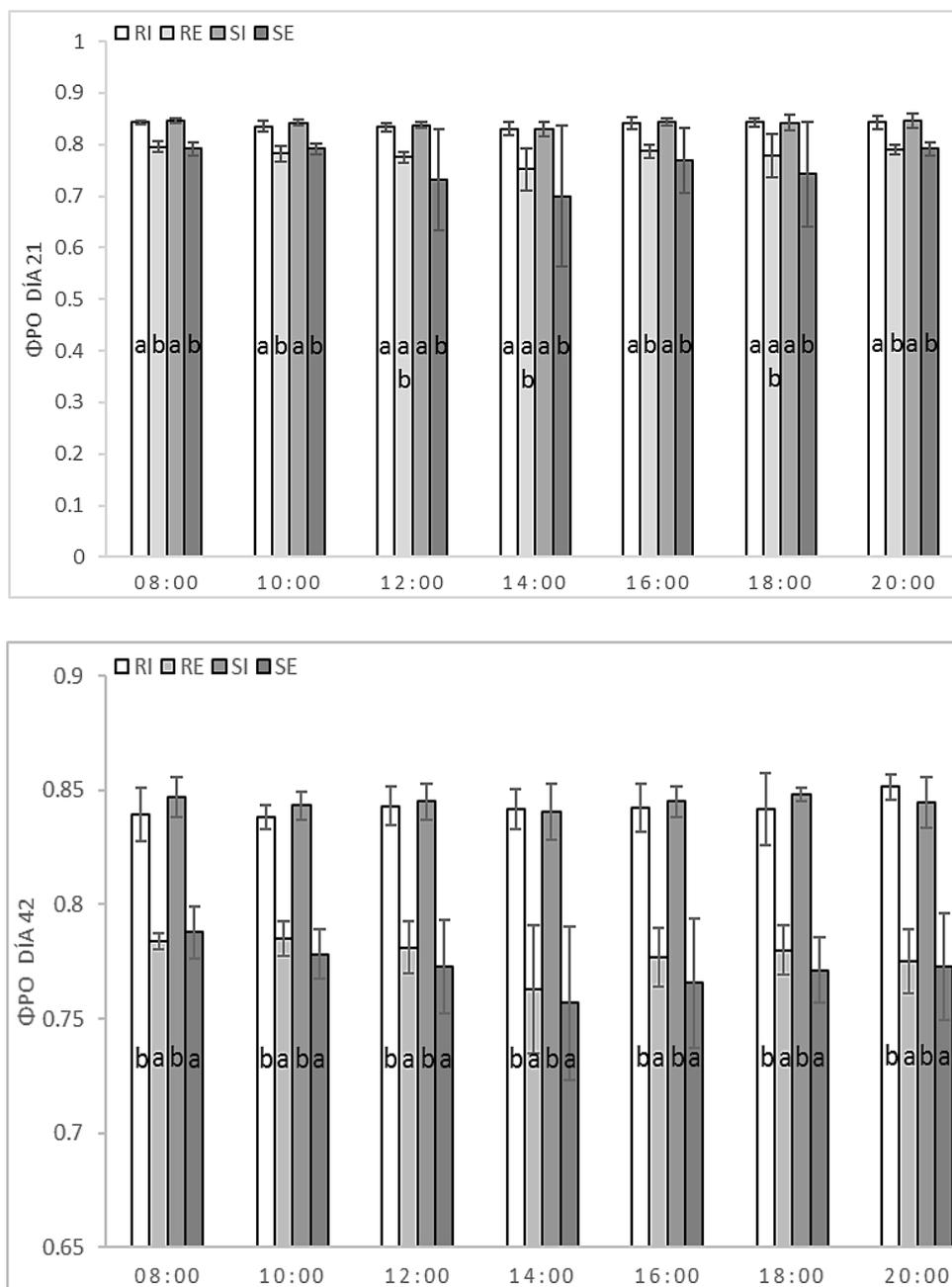


Figura 1 A, B y C. Valores del rendimiento cuántico máximo ( $\Phi_{PO} = F_v/F_m$ ) de la fotoquímica primaria durante los días 1, 21 y 42 de tratamiento. Los datos presentados son la media y las letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.05$ ,  $n = 10$ .

En el día 1 de tratamiento (Figura 1 A) se registró una marcada caída de  $\phi Po$  durante las horas de mayor intensidad lumínica en los tratamientos expuestos a condiciones naturales de luz solar, seguida de una posterior recuperación por la tarde y noche, mientras que en los dos tratamientos de menor intensidad lumínica (40% de luz solar) no se produjo una caída tan marcada, manteniéndose  $\phi Po$  en valores constantes a lo largo del día. El valor de  $\phi Po$  en el día 1 no mostró diferencias por la condición de HA.

En el día 21 de tratamiento (Figura 1 B) se observó un comportamiento semejante que en el día 1, sin embargo la diferencia no fue tan marcada, indicando un posible acondicionamiento por parte de las hojas de *Quercus crassipes*

En el día 42 de tratamiento se mantuvo la misma condición que en el día 1 y 21 en cuanto al tratamiento de luz (Figura 1 C), sin embargo, se observa que los valores de  $\phi Po$  de los tratamientos con mayor intensidad lumínica se alejan más de los tratamientos con menor intensidad lumínica y que la recuperación es ligeramente menor en el último día de tratamiento en todos los grupos. El valor de  $\phi Po$  no mostró diferencias por la condición de HA al final del tratamiento.

La reducción del rendimiento cuántico máximo detectada al mediodía y a primeras horas de la tarde es un proceso ampliamente estudiado en diferentes especies, Ögrem y Evans (1992) en eucalipto y Bolhár-Nordenkampf *et al.* (1991) describieron que una reducción en este valor está asociado a un mecanismo dinámico de disipación de energía, que ocurre durante las horas de máxima radiación y temperatura, el cual es capaz de revertirse en cortos períodos de tiempo.

En condiciones de alta intensidad lumínica los complejos cosechadores de luz reciben una excesiva cantidad de fotones, causando un exceso de centros de reacción en el PSII en estado de excitación (cerrados), esto lleva a la fotoinhibición de las reacciones dependientes de luz en la fotosíntesis. La fotoinhibición puede deberse al exceso de luz o a la deficiencia de la proteína D1, la cual ocurre cuando la desnaturalización ocurre a una mayor tasa que la síntesis. Sin embargo, la principal causa de la fotoinhibición puede ser la formación de centros de reacción fotoquímicos del PSII inactivos, los cuales transforman la energía en calor (Bertamini y Nedunchezian, 2003; Redondo -Gómez *et al.*, 2009). Por

tanto, una disminución en el rendimiento cuántico máximo para la fotoquímica primaria está dada por un aumento en la proporción de energía disipada térmicamente, a este fenómeno se le conoce como Non Photochemical Quenching (NPQ; González *et al.*, 2008).

Los valores de  $\phi_{Po}$  en hojas adaptadas a la oscuridad son usados como un indicador sensible del rendimiento fotosintético, con valores óptimos de aproximadamente 0.83 para la mayoría de las especies (Björkman y Demming, 1987; Johnson *et al.*, 1993). Los valores más bajos a este se pueden encontrar cuando la planta ha sido expuesta a algún tipo de estrés, indicando el fenómeno de fotoinhibición (Maxwell y Johnson, 2000). En la Figura 1 se observa que desde el día 1 de tratamiento los valores de  $\phi_{Po}$  fueron menores a 0.8, por lo que esto nos demuestra que el rendimiento cuántico máximo para *Quercus crassipes* es menor en alta irradiación.

Zaghdoudi *et al.* (2011) afirman que el fenómeno de fotoinhibición se encuentra adosado a la disminución del valor del rendimiento cuántico máximo, y por otra parte que el fotosistema II es muy susceptible a la intensidad lumínica, resultando en un daño que es linealmente dependiente a la tasa de flujo fotónico (Tyystjarvi, E. Aro, E., 1996); lo cual explica la disminución similar en los valores de  $\phi_{Po}$  en los dos grupos expuestos a una mayor intensidad lumínica (RE y SE), como se observa en las figuras 1 A, B y C.

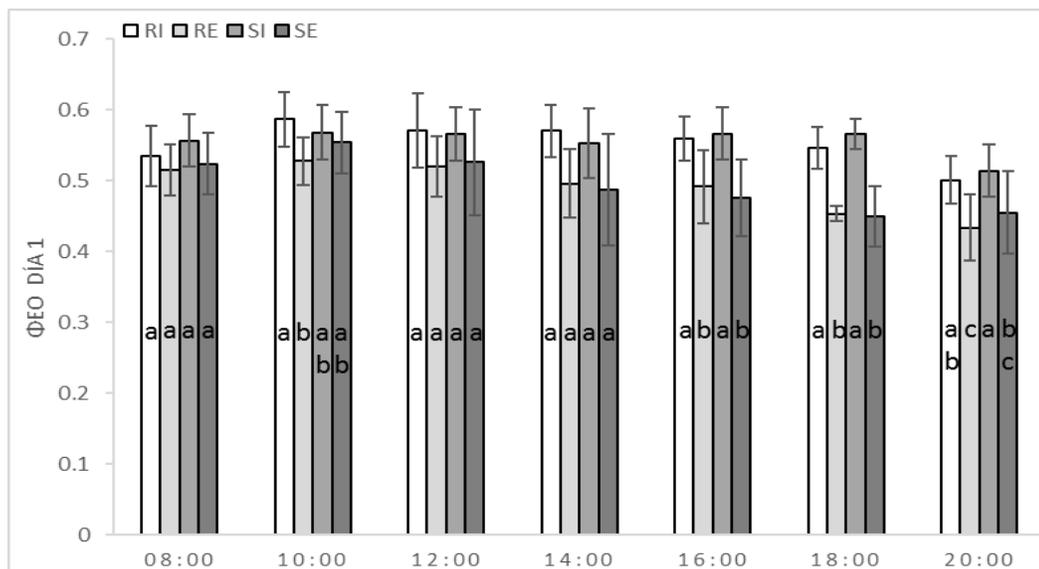
La exposición a condiciones naturales de luz (RE y SE) provocó una reducción en el número de centros de reacción abiertos en *Quercus crassipes*, y de esta manera pudo causar un bloqueo del transporte de electrones, la disminución en  $\phi_{Po}$  puede deberse a un daño por exceso de luz en los centros de reacción del PSII (Valladares y Percy, 1997); el daño a los centros de reacción no causa cambios en los valores de  $F_o$  (Maxwell y Johnson, 2000), estos datos coinciden con lo encontrado en este trabajo, en el que se obtuvieron valores para  $F_o$  sin diferencias significativas entre los 4 grupos en los 42 días de tratamiento (datos no mostrados).

Lo anterior puede observarse y contrastarse entre la Figura 1 B y 1C, en esta última ya no se observa una recuperación tan rápida después de las horas de mayor intensidad lumínica, indicando un posible daño debido a la exposición constante a una intensidad lumínica alta. Ogaya y Peñuelas (2003) observaron en el encino *Quercus ilex* que las

hojas expuestas a la luz directa del sol tenían valores menores de  $\phi Po$  que las hojas en sombra, concordando con lo encontrado en el presente trabajo.

Ögrem y Evans (1992) encontraron en 6 especies de eucalipto que la fotoinhibición producida por el exceso de luz incrementa cuando existe escasez de agua, haciendo que el proceso de recuperación del valor de  $\phi Po$  se tarde varios días en regresar a sus valores normales a lo largo del día, y siendo éste condicionado a una disminución de la intensidad lumínica; sin embargo, en el presente trabajo, como se observa en la Figura 1 A y B, no se encontró una relación en el aumento de la fotoinhibición y la baja disponibilidad de agua, esto puede ser debido a que en los encinos, o en específico en *Quercus crassipes*, exista un mecanismo que presente alguna respuesta para reducir los efectos del estrés hídrico o a que el tratamiento de 10% de HA no representa una condición de estrés hídrico en *Quercus crassipes*.

Los valores bajos de  $\phi Po$  están relacionados con una saturación o cierre de los centros de reacción y con la disipación en forma de calor debido al exceso de energía recibida, esto se puede traducir, en la cadena de transporte, en una reducción en el transporte de electrones, que se reflejaría en la baja de los valores  $\phi Eo$ , que representa la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón hacia después de la QA, lo cual se discute más abajo.



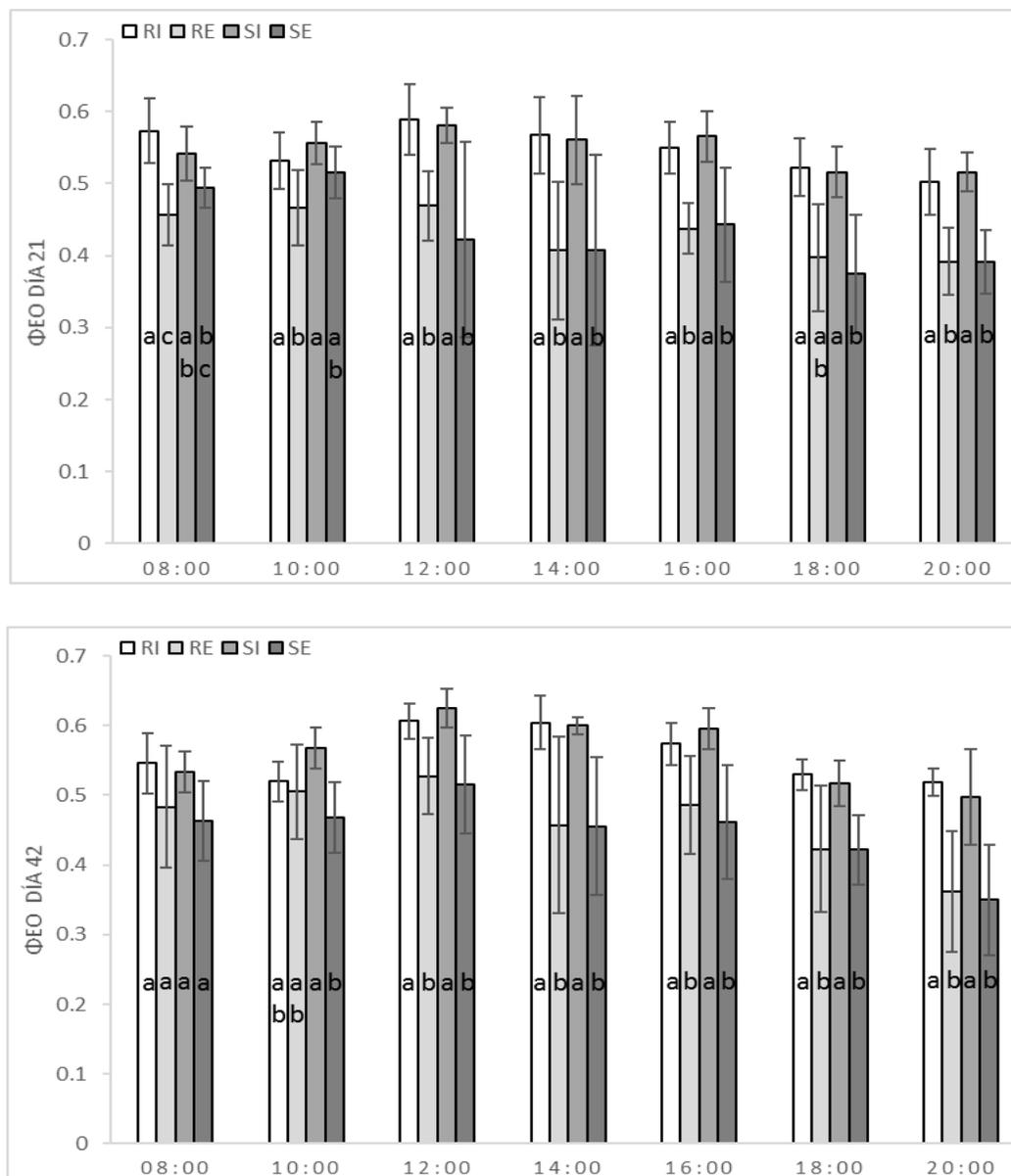


Figura 2 A, B y C. Efecto de los tratamientos de luz y humedad sobre el rendimiento cuántico de transporte de electrones ( $\phi_{Eo}$ ) durante el día 1, 21 y 42 de tratamiento (unidades relativas). Los datos presentados son la media y las letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.5$ ,  $n = 10$ .

En la Figura 2, se puede observar los valores del rendimiento cuántico de transporte de electrones, que se refiere a la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón después de QA (Strasser *et al.*, 2000).

En la Figura 2 A los valores de  $\phi_{Eo}$  permanecen constantes hasta la medición de las 16:00 horas, periodo en el que el promedio de irradiación solar fue mayor, encontrando

valores menores y diferencias significativas entre los grupos expuestos a mayor intensidad lumínica y los grupos expuestos al 40% de ésta intensidad. También se observa una diferencia significativa respecto al control en el grupo RE (riego al 80% de HA y expuesto a un 40% de luz natural) a las 10:00 y a las 20:00 horas, sin embargo, al compararlo con el grupo SE y SI no muestra diferencias significativas.

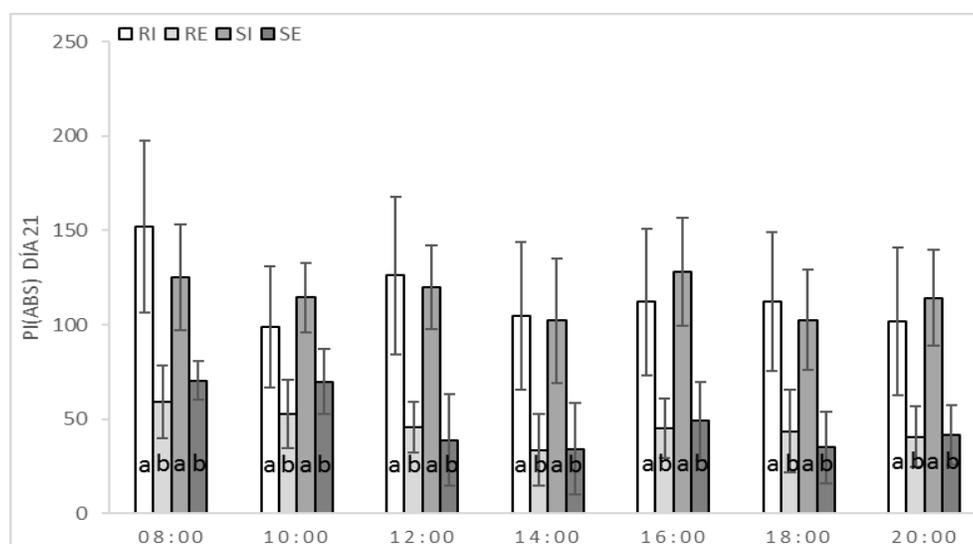
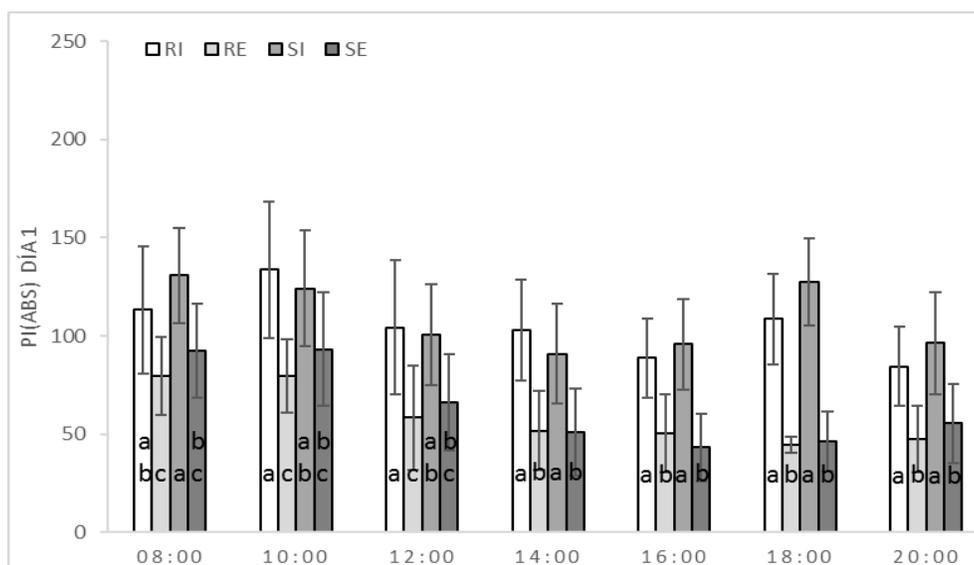
En la Figura 2 B se observa que los valores de  $\phi E_o$  permanecen sin diferencias significativas hasta las 12:00 horas, periodo en el que inició la mayor irradiación solar y en el que los valores de  $\phi E_o$  de los grupos RE y SE disminuyen significativamente respecto al grupo control.

Los valores iniciales, a las 08:00 horas en el día 42, en donde no se observan diferencias significativas entre los tratamientos, sugieren que los mecanismos de recuperación y disipación del exceso de energía funcionan correctamente, evitando mayores daños a la actividad fotoquímica después de la exposición al estrés por alta irradiación, revelando que estos entran en acción y recuperan las condiciones normales de la actividad fotosintética pocas horas después.

Lo anterior confirma un daño a nivel de centros de reacción del fotosistema dos. Por otra parte, el producto cuántico para la disipación energética por parte del sistema de antenas ( $\phi D_o$ ; datos no mostrados) incrementó, indicando que existe una liberación de energía; esto quiere decir que la exposición a una mayor intensidad lumínica lleva a una ineficiencia de carácter estructural. Esta disipación energética es importante porque contribuye a evitar un fotodaño mayor al aparato fotosintético debido a un exceso de energía lumínica o al impedimento en su manejo (Kato *et al.*, 2003).

Ceacero *et al.* (2012) encontraron que los valores del rendimiento cuántico del transporte de electrones disminuyen en *Quercus ilex* cuando está expuesto a condiciones de luz solar natural y que a la sombra, protegido por tubos invernadero, estos valores presentan un aumento respecto a los primeros, coincidiendo con los valores que se encontraron en el presente trabajo. Por último, al analizar los valores mostrados en la Figura 2, se puede observar que el tratamiento de HA al 10% no representa una condición de estrés para *Quercus crassipes*.

El índice de funcionamiento ( $PI_{ABS}$ ) combina tres parámetros favorables para la actividad fotosintética: (1) la densidad de centros de reacción; (2) el rendimiento cuántico de la fotoquímica primaria, y (3) la probabilidad de llevar electrones hacia la cadena de electrones entre el PSII y el PSI (Strasser et al. 1999; Srivastava et al. 1999; Tsimilli-Michael et al. 2000).  $PI_{abs}$  refleja la funcionalidad de los fotosistemas I y II y brinda información cuantitativa del estado del rendimiento de la planta bajo condiciones de estrés (Strasser et al. 2004).



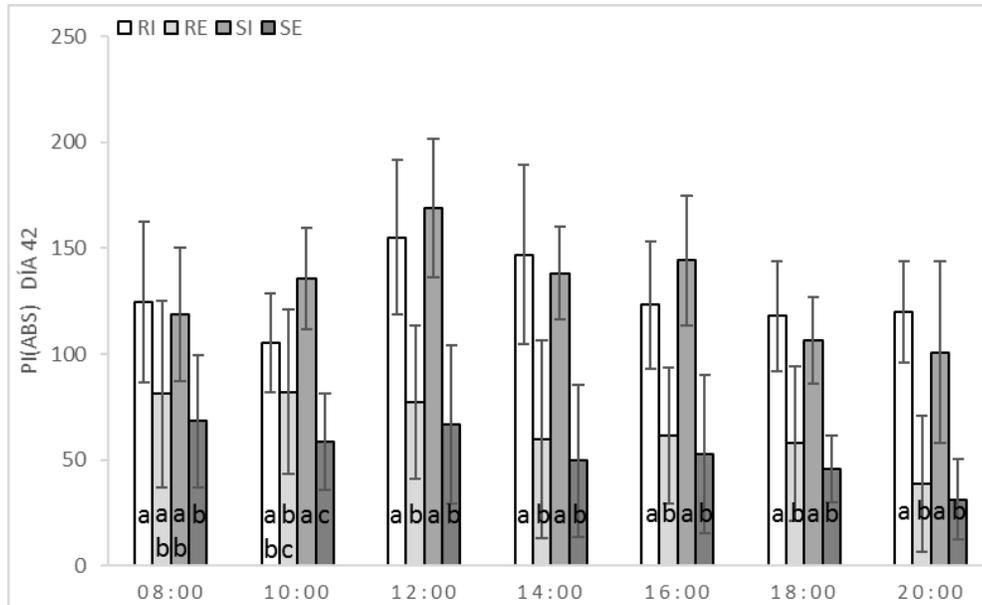


Figura 3 A, B y C. Valores del índice de funcionamiento ( $PI_{ABS}$ ) durante los días 1, 21 y 42 de tratamiento. Los datos presentados son la media y las letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.5$ ,  $n = 10$ .

En la figura 3 se pueden observar los índices de funcionamiento fotosintético, a partir de estos valores se puede caracterizar la vitalidad de la planta (Strasser *et al.*, 2000); un descenso dramático del parámetro  $PI_{ABS}$  total resulta no sólo de la pérdida de la actividad del fotosistema dos, sino además de un daño en la estructura y función del fotosistema uno (Li *et al.*, 2010).

En la figura 3 A, durante el día 1 de tratamiento se observan diferencias significativas respecto al control, desde la primera hora de medición (08:00 horas) en uno de los grupos expuestos a mayor intensidad lumínica (RE) y a 80% de HA, posteriormente a las 10:00 horas el segundo grupo (SE) ya presenta diferencias significativas respecto al control; esta condición se mantuvo así a lo largo del día, incluso a las 20:00 horas, momento en el que ya no se registra irradiación.

En la figura 3 B se refleja el mismo comportamiento que en la figura 3 A, mientras que en la figura 3 C se observa que se mantuvo una condición semejante al primer día de tratamiento, sin embargo, esta vez el grupo que presenta diferencias significativas respecto al control es el grupo SE, el cual se encuentra a 10% de HA. A partir de la

medición de las 12:00 horas es cuando el segundo grupo expuesto a mayor intensidad lumínica (RE) presenta diferencias significativas respecto al control, y continua así para ambos tratamientos hasta el final del día.

Los grupos de *Quercus crassipes* bajo un 40% de luz solar, mostraron valores más altos de  $PI_{ABS}$  que los grupos expuestos a condiciones naturales de luz solar, posiblemente debido a la fotoinhibición causada por el exceso de energía lumínica en los grupos expuestos a condiciones naturales de luz solar. Los valores más altos de  $PI_{ABS}$  en los grupos RI y SI, que durante el día 42 (Figura 3 A) mostraron un incremento más de 2 veces que los grupos RE y SE a partir de las 12:00 horas, sugieren un mayor grado de fotoinhibición, independientemente de los tratamientos de la humedad aprovechable (HA).

La relación entre  $PI_{ABS}$  y  $\phi E_o$  muestra que los grupos expuestos a un 40% de luz solar presentan una mejor capacidad para usar la energía lumínica que los grupos expuestos a una condición de luz solar natural, por lo tanto, los primeros tienen una capacidad más alta para la conversión de energía lumínica en energía química, lo cual es dirigido hacia las reacciones metabólicas en el proceso bioquímico de la fotosíntesis (Hermans *et al.*, 2003).

Bussotti, (2004) encontró en *Quercus ilex* que la baja en valores de  $PI_{ABS}$  está caracterizada por una baja en los valores de  $\phi P_o$  bajo condiciones de alta irradiación lumínica, lo que representa una concordancia con lo encontrado en el presente trabajo como se puede observar en las Figuras 1 y 3.

Guha *et al.* (2013) encontraron que, bajo un estrés hídrico progresivo (restricción de agua por diez días), los valores de  $PI_{ABS}$  muestran cambios significativos en *Morus nigra*, respecto al grupo control, que se encuentra con una HA de 100%. Varios autores señalan que el estrés hídrico es el factor más limitante en el descenso de la tasa fotosintética. Por esta razón, gran cantidad de trabajos, parte de ellos desarrollados exclusivamente para encino (*Quercus ilex* sub. *ballota* [Desf.] Samp.), han centrado su interés en la sensibilidad de este parámetro frente a fenómenos de sequía y estrés hídrico (Ogaya y Peñuelas, 2003; Oliveira y Peñuelas, 2004; Baquedano y Castillo, 2006). En base a lo anterior se puede sugerir que la condición de 10% de HA no representa un estrés hídrico para *Quercus crassipes*, ya que la mayoría de estos trabajos exponen a las diferentes especies

de plantas, encino en especial, a condiciones de estrés hídrico con una HA de 0% por largos periodos de tiempo (hasta 15 días).

Los valores bajos de  $\phi_{Po}$ ,  $\phi_{Eo}$  y  $PI_{ABS}$  en respuesta a las condiciones de alta irradiación sugieren que el estrés causado provoca un aumento en la energía libre en el sistema que no es utilizado para la fotosíntesis, y que *Quercus crassipes* no presentó una plasticidad para adaptarse a estas condiciones después de 42 días, por el contrario en los grupos al 40% de luz solar la energía libre es menor, ya que debido a la baja irradiación, la mayor parte de la energía lumínica es utilizada para realizar fotosíntesis.

Uno de los parámetros más útiles para medir la eficiencia fotoquímica del fotosistema II es el parámetro de Genty ( $Q_y$ ) o  $\Phi_{PSII}$  (Genty *et al.*, 1989). Este es calculado así:

$$\Phi_{PSII} = (F_m' - F_t) / F_m'$$

Este parámetro mide la proporción de luz absorbida por la clorofila asociada con el PSII que es usada en la fotoquímica, por lo que  $\Phi_{PSII}$  es la proporción de energía absorbida utilizada en la fotoquímica. Como tal, puede dar una medida de la tasa de transporte electrónico lineal y así dar una indicación de la totalidad de la fotosíntesis (Maxwell y Johnson, 2000). Ya que el  $\Phi_{PSII}$  es el rendimiento cuántico de la fotoquímica del PSII puede ser utilizado para calcular la tasa de transporte electrónico lineal y, por tanto, la capacidad fotosintética total *in vivo* (Genty *et al.*, 1989), como se describe a continuación:

$$ETR = \Phi_{PSII} \times PAR$$

Donde PAR es la luz fotosintéticamente activa absorbida por la hoja ( $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

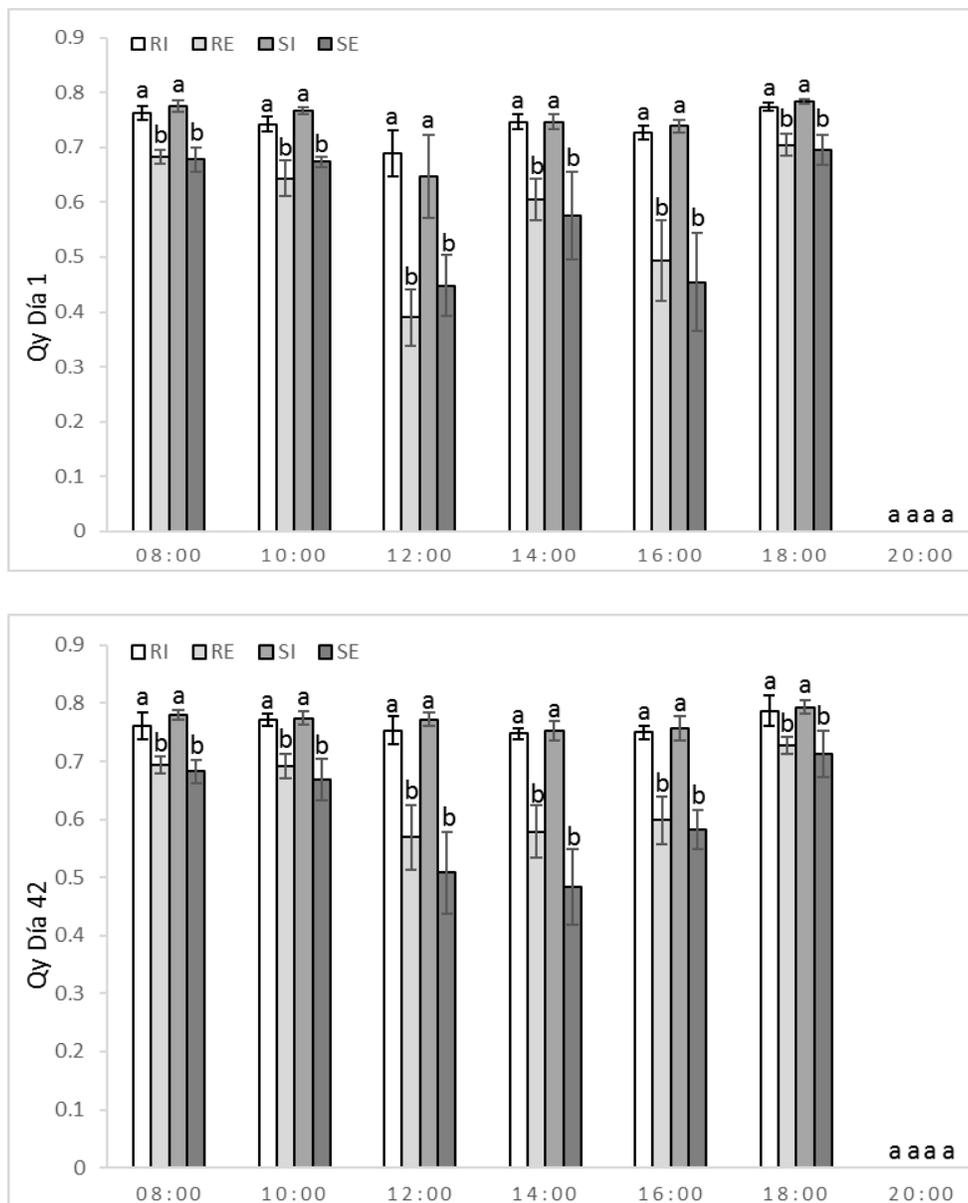


Figura 4 A y B. Valores de  $Q_y$  (parámetro de Genty o  $\Phi_{PSII}$ ) durante el día 1 y 42 de tratamiento. Los datos presentados son la media y las letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.05$ ,  $n = 10$ .

En la figura 4 A se observan los valores de  $\Phi_{PSII}$  del día 1, en los que se aprecia que la eficiencia fotoquímica se ve afectada desde las primeras horas en los tratamientos expuestos a mayor intensidad lumínica respecto al control, esta diferencia se acentúa a medida que la intensidad lumínica aumenta, indicando que a mayor exposición a luz solar las hojas de *Quercus crassipes* disminuyen la eficiencia fotoquímica.

En la figura 4 B se ve que los valores de  $\Phi$ PSII del día 42 se mantienen igual que en el día 1, reflejando una baja en la eficiencia fotoquímica en las horas de mayor intensidad lumínica.

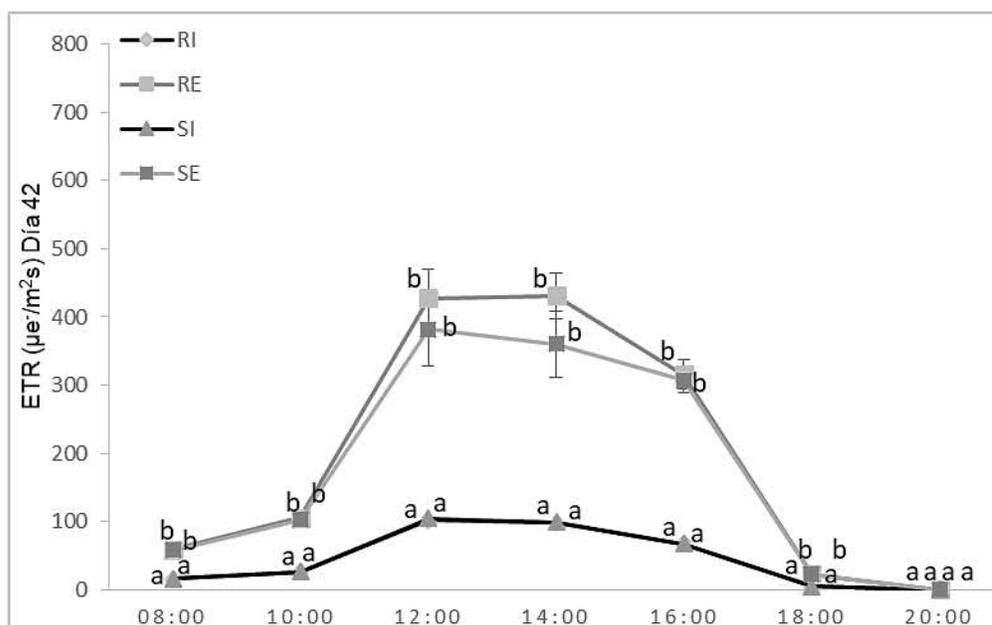
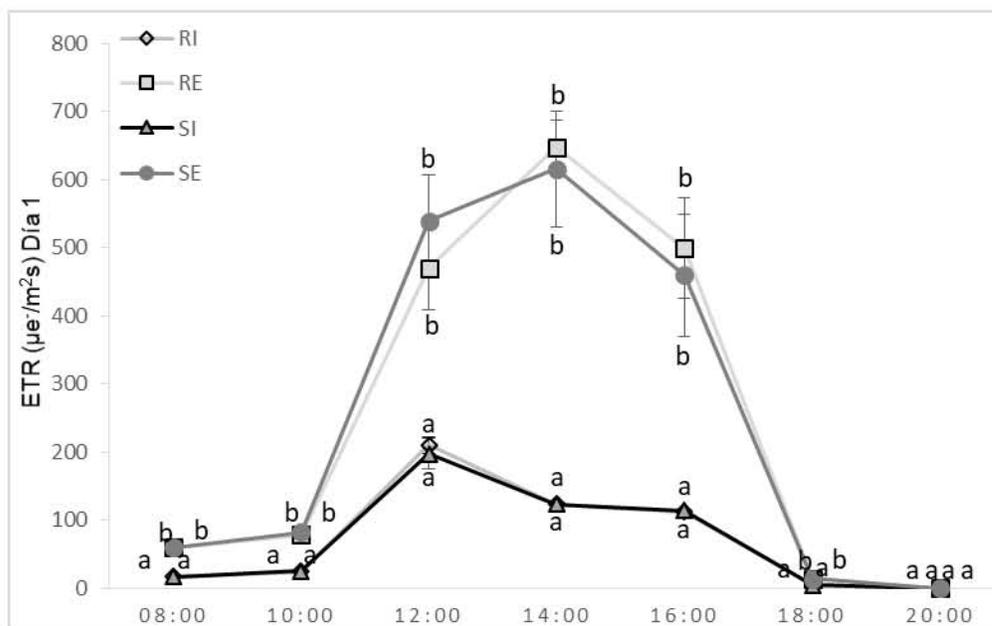


Figura 5 A y B. Valores de ETR (transporte electrónico) durante el día 1 y 42 de tratamiento. Los datos presentados son la media y las letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.5$ ,  $n = 10$ .

En la figura 5 A se observa que los valores de transporte electrónico aumentan significativamente en los tratamientos expuestos a mayor intensidad lumínica, indicando un mayor flujo de transporte de electrones debido a la alta irradiación solar.

La figura 5 B refleja el mismo comportamiento que la figura 5 A, observándose un mayor transporte electrónico en los tratamientos expuestos a mayor intensidad lumínica, siendo entre las 12:00 y las 16:00 hrs. el momento de mayor irradiación, y disminuyendo los valores de ETR gradualmente hasta llegar a 0 en la ausencia de luz.

De acuerdo a Lawlor (2002) las tasas de transporte electrónico se mantienen a, relativamente, altos niveles a bajos niveles de humedad aprovechable y cuando decrece lo hace en general cuando la conductancia estomática cae a valores muy bajos (ca. 0.10-0.15 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; Flexas *et al.* 2002), esta caída del transporte de electrones, en general es de menor magnitud que la disminución de la asimilación de CO<sub>2</sub> (Noctor *et al.*, 2002).

En las figuras 5 A y B se observa que la relación entre humedad aprovechable y el transporte electrónico no refleja lo anteriormente expuesto, por lo que podemos decir que la interacción entre transporte electrónico y cantidad de energía lumínica esta más correlacionada que la humedad aprovechable y el transporte electrónico en el presente trabajo.

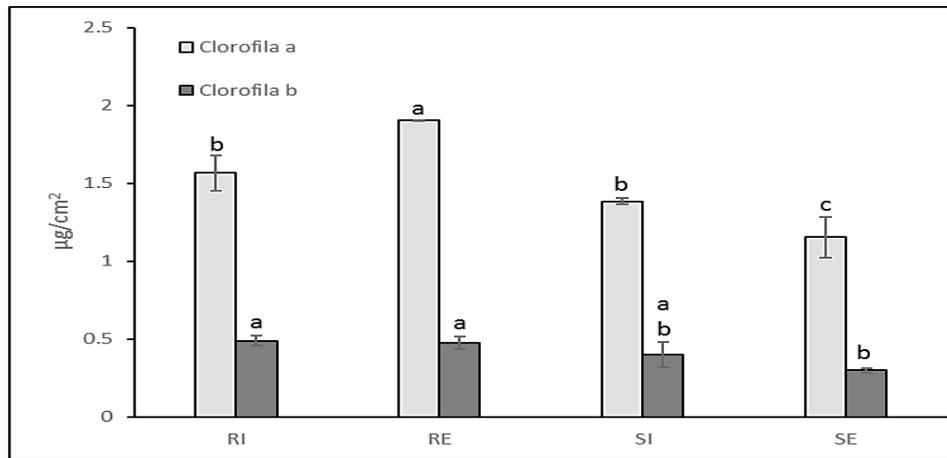


Figura 6. Efecto de los tratamientos de luz y humedad en las concentraciones de clorofila a y b en hojas de *Quercus crassipes*. Los datos presentados son la media y las letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.5$ ,  $n = 10$ .

La fluorescencia de la clorofila a, que permite observar cambios en el transporte electrónico (González *et al.*, 2008), prueba que la principal afección, en esta planta sometida a altas condiciones de irradiación solar se presenta en el lado donador del PSII. La afección pudo deberse al incremento del complejo antena, simultáneo a una inactivación de los centros de reacción; es decir, en la fase fotoquímica del modelo de fluorescencia.

Las radiaciones más intensas (44-50% y 66-70%) provocaron un esperable descenso en la actividad del fotosistema II reflejado en la disminución de los valores de  $F_v/F_m$  al mediodía y primera hora de la tarde. Este comportamiento, propio de las especies en ambiente mediterráneo, ha sugerido la existencia de un sinergismo con fenómenos de cierre estomático que co-ocurren en respuesta a una mayor demanda evaporativa provocando pérdidas en la eficiencia fotosintética (Valladares & Pearcy, 1997, Valladares *et al.*, 2002).

Por otro lado, Valladares *et al.* (2000) registran para esta misma especie, que el contenido de carotenoides y la disipación no fotoquímica del exceso de energía se incrementaba con el incremento de la radiación.

Cuando se analiza el transporte lineal (o acíclico) de electrones (estimado por la eficiencia cuántica del PSII,  $\phi_{PSII}$ ), en general se observa una caída con el estrés (Flexas y col. 1998), y en general esta regulación a la baja ('downregulation') está asociada a un

aumento en la tasa de disipación de energía al nivel de la antena del PSII (Nogués y Baker 2000; Flexas *et al.* 2002). En términos generales, la disminución de la tasa del transporte electrónico suele ser de menor magnitud que la caída de la tasa fotosintética (Flexas y col. 1998), lo que sugiere que otros procesos (distintos que la asimilación de CO<sub>2</sub>) se convierten en destinos alternativos de electrones. Es decir, la disminución del transporte de electrones con el estrés hídrico moderado no parece estar vinculada a daño, sino que sería un proceso que puede revertirse cuando la situación de estrés es superada (Lawlor 2002).

## **Conclusiones**

Se observó una afectación en la fotoquímica primaria en las plantas de *Quercus crassipes* que estuvieron expuestas a alta irradiación solar, mientras que en las plantas que estuvieron expuestas a una baja humedad aprovechable no se observó afectación alguna, ni en los grupos en las que estas variables tuvieron una interacción con alta irradiación solar.

El rendimiento cuántico máximo presentó una reducción detectada al mediodía y a primeras horas de la tarde, manteniéndose la misma condición a lo largo del tratamiento debido al daño provocado por la alta irradiación solar.

El rendimiento cuántico de transporte de electrones presentó una disminución que concuerda con los datos del rendimiento cuántico máximo, debido a la alta irradiación solar a lo largo de los 42 días de tratamiento.

El índice de funcionamiento se vio afectado de la misma manera debido a la alta irradiación solar, sin mostrar una correlación entre la cantidad de irradiación solar y la cantidad de humedad aprovechable.

El parámetro de Genty mostró el mismo comportamiento que los parámetros anteriores, viéndose afectado por la irradiación solar a lo largo de los días de tratamiento y sin afectación alguna por los valores de humedad aprovechable.

El ETR mostró gran sensibilidad ante la alta irradiación solar a lo largo de los días de tratamiento, y de igual manera que los otros parámetros no se vió afectado por las condiciones de humedad aprovechable.

La concentración de clorofilas fue el único parámetro que mostró afectación por la humedad aprovechable, observándose que cuando esta presente una alta irradiación solar y una baja humedad aprovechable las concentraciones de clorofila a y b disminuyen respecto a los otros grupos y el grupo con mayor irradiación solar y mayor intensidad lumínica presentó un aumento en la concentración de clorofila a, demostrando que puede existir un mecanismo de regulación para combatir la alta irradiación solar pero que solo esta presente cuando la planta no tiene limitaciones hídricas.

## Bibliografía

Adams WW III, Winter K, Schreiber U, Schramel P. 1990. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigment and element composition of leaves of *Platanus occidentalis* L. during autumnal leaf senescence. *Plant Physiology* 92, 1184–1190.

Arizaga, S., Martínez, J., Salcedo, M., Bello, M. A. (2009). Manual de la biodiversidad de encinos michoacanos. SEMARNAT & INE. Progreso. México. 147 P.

Aro, E.M. 2005 Dynamics of photosystem II: a proteomic approach to thylakoid protein complexes. *J. Exp. Bot.* 56, 347–356.

Aro, E.M. McCaffery, S. Anderson, J. 1993. Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to different growth irradiances. *Plant Physiol.* 103: 835-843.

Auirrezabal, L. Bouchier-Combaud, S. Radziejwoski, A. Dauzat, M. Cookson, S.J. Granier, C. 2006. Plasticity to soil water deficit in *Arabidopsis thaliana*: dissection of leaf development into underlying growth dynamic and cellular variables reveals invisible phenotypes, *Plant Cell Environ.* 29: 2216–2227.

Aliyev, J. A. 2012. Photosynthesis, photorespiration and productivity of wheat and soybean genotypes. *Physiol Plant.* 145: 369-383.

Barber, J. and Anderson, B. (1992). Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *TIBS* 17: 61-66.

Barber, J. Andersson, B. 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *Trends Biochem. Sci.* 17: 61-66.

Bota, J. Medrano, H. Flexas, J. 2004. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytologist*, 162: 671-681.

Briantais, J.-M. Vemotte, C. Picaud, M. Krause, G.H. 1979. A quantitative study of the slow decline of chlorophyll a fluorescence in isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 548, 128-138.

Brodribb, T. J. McAdam S. Jordan, G. J. Field, T. S. 2009. Evolution of stomatal responsiveness to CO<sub>2</sub> and optimization of water-use efficiency among land plants. *New Phytol.* 183: 839–847.

Chaves, M. M., Flexas, J. y Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant cell. *Annals of botany.* 103: 551-560.

Chaves, M.M. Maroco, J.P. Pereira, J.S. 2003. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant, *Funct. Plant Biol.* 30: 239–264.

Dajic, Z. 2006. Salt stress. En: Madhava, R., Raghavendra, A. S. and Janardhan R. K. (eds.), *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants.* Springer. Pág 60.

Demmig-Adams, B. Adams, W. W III. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Biol.* 43: 599-626.

Demmig, B. Björkman, O. 1987. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O<sub>2</sub> evolution in leaves of higher plants. *Planta*, 171: 171-184.

Daugherty, C.J. Rooney, M.F. Paul, A.L. De Vetten, N. Vega-Palas, M.A. Lu, G. Gurley, W.B. Ferl, R.J. 1994. Environmental stress and gene regulation in *Arabidopsis*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA. pp. 769–806.

Ensminger I, Busch F, Huner NPA. 2006. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis. *Physiologia Plantarum.* 126, 28–44.

Ensminger, I. Hagen, C. Braune, W. 2000. Strategies providing succes in a variable habitat. *Ecophysiology of photosynthesis of Cladophora glomerata.* *Plant Cell Environ.* 23: 1129-1136.

Filella, I. Llsia, J. Piñol, J. Peñuelas, J. 1998. Leaf gas exchange and fluorescence of *Phyllyrea latifolia*, *Pistacia lentiscus* and *Quercus ilex* saplings in severe drought and temperature conditions. *Environ. Exper. Bot.* 39: 213-220.

Flexas, J. Medrano, H. 2002. Drought-inhibition oh photosynthesis in C<sub>3</sub> plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany.* 89: 183-189.

Flexas, J. Bota, J. Loreto, F. Cornic, G. Sharkey, T. D. 2004. Diffusive and metabolic limitation to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*. 6: 1-11.

Flexas, J. Loreto, F. Medrano, H. 2012. Terrestrial photosynthesis in a changing environment: a molecular, physiological, and ecological approach. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 752 p.

Fuchs, M.A., Krannitz, P.G. and Harestad, A.S. 2000. Factors affecting emergence and first survival of seedlings of Garry oaks (*Quercus garryana*) in British Columbia, Canada. *Plant Ecol. Manag.* 137: 209-219

García-Plazaola, J. I. Esteban, R. Fernández-Marín, B. Kranner, I. Porcar-Castell, A. 2012. Thermal energy dissipation and xanthophyll cycles beyond the *Arabidopsis* model. *Photosynth Res.* 113: 89-103.

Giardi, M.T., Cona, A., Geiken, B., Kucera, T., Masojádek, J and Matoo, A.K. 1996. Long-term drought stress induces structural and functional reorganization of photosystem II. *Planta* 199: 118-125.

Giardi, M.T. Masojádek, J. Godde, D. 1997. Effects of abiotic stresses on the turnover of the D1 reaction centre II protein. *Physiol. Plant.* 101: 635-642.

González, S. M., Perales, H. V. y Salcedo. 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. *Revista de Educación Bioquímica.* 27 (4): 119-129.

Govindjee. 1995. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll *a* fluorescence. *Australian Journal of Plant Physiology.* 22: 131-160.

Govindjee, Kern, J. F., Messinger, J. y Whitmarsh, J. 2010. Photosystem II. En: *Encyclopedia of Life Science.* John Wiley and Sons, Ltd: Chichester.

Gratani, L., Pesoli, P., Crescente, M.F., Aichner, K., and Larcher, W. 2000. Photosynthesis as temperature indicator in *Quercus ilex* L. *Global and Planetary Change.* 24: 153-156.

H. van Amerongen, L. Valkunas, R. van Grondelle. 2000. Photosynthetic Excitons. World Scientific Publishing Company. NY,USA. 228pp.

Hideg, E. Kálai, T. Hideg, K. Vass, I. 1998. Photoinhibition of photosynthesis in vivo results in singlet oxygen production detection via nitroxide-induced fluorescent quenching in broad bean leaves. *Biochemistry* 37: 11405-11411.

Huner NPA, Maxwell DP, Gray GR, Savitch LV, Krol M, Ivanov AG, Falk S. 1996. Sensing environmental temperature change through imbalances between energy supply and energy consumption: redox state of photosystem II. *Physiologia Plantarum* 98, 358–364.

Huner, N.P.A., Öquist, G. and Sarhan, F. 1998. Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends Plant Sci.* 3 (6) 224-230.

Kitajima, M. y Butler, W. L. 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochimica et Biophysica Acta.* 376: 105 – 115.

Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O., y Edwards, G. E. 2004. New fluorescence parameters for the determinations of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research.* 79: 209-218.

Lawlor, D. Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbón assimilation and associated metabolism in relation to wáter déficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment.* 25: 275-294.

Leiva, M.J. and Fernández-Alés, R. (1998). Variability in seedling water status during drought within *Quercus ilex* subsp. Ballota population, and its relation to seedling morphology. *Forest Ecol Management* 111: 147-156

Markesteyn, L. Poorter, L. 2009. Seedling root morphology and biomass allocation of 62 tropical tree species in relation to drought and shade-tolerance. *J. Ecol.* 97: 311-325.

Maxwell K., Giles N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot;* 51 (345): 659-668.

Minagawa, J. 2011 State transitions — the molecular remodeling of photosynthetic supercomplexes that controls energy flow in the chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta* 1807: 897–905.

- Niinemets, Ü. 2007. Photosynthesis and resource distribution through plant canopies. *Plant Cell Environ.* 30: 1052-1071.
- Noctor, G. Veljovic-Jovanovic, S. Driscoll, S. Novitskaya, L. Foyer, C. 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? *Annals of Botany.* 89: 841-850.
- Obata, T. Fernie, A. R. 2012. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cell Mol Life Sci.* 69: 3225-3243.
- Ögren E, .quist G, H.Ilgren J-E. 1984. Photoinhibition of photosynthesis in *Lemna gibba* as induced by the interaction between light and temperature. III. Chlorophyll fluorescence at 77 K. *Physiologia Plantarum* 62: 193–200.
- Parry, M. A. J. Androlojc, P. J. Khan, S. Lea, P. J. Keys, A. J. 2002. Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany.* 89: 833-839.
- Paul, M. J. Foyer, C. H. 2001. Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 52: 1383-1400.
- Perales, H. V. 2001. Efecto del estrés salino sobre los eventos primarios de la fotosíntesis en *Triticum aestivum* L. Tesis de Maestría. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. Estado de México.
- Pfündal, E. E., Klughammer, C., Meister, A. y Cerovic, Z. G. 2013. Deriving fluorometer-specific values of relative PSI fluorescence intensity from quenching of Fo fluorescence in leaves of *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. *Photosynthesis Research.* 114:189-206.
- Porcar-Castell, A. Tyystjärvi, E. Atherton, J. Tol, C. Flexas, J. Pfündel, E. Moreno, J. Frankenberg, C. Berry, J. 2014. Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges. *Journal of Experimental Botany.* 65 (15): 4065-4095.
- Raghavendra, A. S. y Padmasree, K. 2003. Beneficial interactions of mitochondrial metabolism with photosynthetic carbon assimilation. *TRENDS in Plant Science.* 8 (11): 546-553.
- Rzedowski J. 1981. *Vegetación de México*. Ed. Limusa. México. 423 pp.

Salisbury F. B. 1992. *Plant physiology*. Ed. Wadsworth. 4ta edición. California. 657 pp.

Strasser, B. J. y Strasser, R. J. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. En: *Photosynthesis: from light to biosphere*. Mathis P. (Eds) Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. pp. 977-980.

Strasser, R. J. 1981. The grouping model of plant photosynthesis: heterogeneity photosynthetic units in thylakoids. En: Akoyunoglou G (ed) *Photosynthesis III. Structure and Molecular organization of the photosynthetic apparatus*. Pp. 727-737. Balaban International Science Services, Philadelphia, Pa.

Strasser, R. J., Srivastava, A. y Tsimilli-Michael, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. En: *Probing Photosynthesis, Mechanism, Regulation, Adaptation*. Editores: Yunus M, Pathre U, Mohanty P. Taylor y Francis. New York. Pp 445-483.

Strasser, R. J. y Stirbet, A. D. 2001. Estimation of the energetic connectivity of PS II centres in plants using the fluorescence rise O–J–I–P: Fitting of experimental data to three different PS II models. *Mathematics and Computers in Simulation*. 56: 451-461.

Taiz, L., y Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. 5th Ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA. 792 pp.

Takahashi, S. y Murata, N. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends in Plant Science*. 13 (4): 178 – 182.

Tikkanen, M., Nageswara, R., Eva-Mari, A. 2013. Photosystem II photoinhibition-repair cycle protects Photosystem I from irreversible damage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 1837 (1): 210–215.

Trewavas, A.J. Jones, H.G. 1991. An assessment of the role of ABA in plant development. Ed H.G. Jones. *Abscisic Acid: Physiology and Biochemistry*, BIOS. Scientific Publishers, Oxford, UK. pp. 169–188.

Turner, N., C. 1997. Further progress in crop water relations. *Adv. Agronom.* 58:293-338.

Voss, I. Sunil, B. Scheibe, R. Raghavendra, A. S. 2013. Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. *Plant Biol.* 15: 713-722.

Ward, J.S., Gent, M.P.N., Stephens, G. R. 2000 Effects of planting stock quality and browse protection-type on height growth of northern red oak and eastern white pine. *Forest Ecol. Manag.* 127: 205-216.

Weber, A. P. M. Bauwe, H. 2013. Photorespiration – a driver for evolutionary innovations and key to better crops. *Plant Biology.* 15: 621-623.

Xu, L. Yu, J. Han, L. Huang, B. 2013. Photosynthetic enzyme activities and gene expression associated with drought tolerance and post-drought recovery in Kentucky bluegrass. *Environmental and Experimental Botany*, 89: 28-35.

Zelitch, I. 1973. Plant productivity and the control of photorespiration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 70: 579-584.

Zhang, J. Yao, Y. C. Streeter, J. G. Ferree, D. C. 2013. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fuji/M. 9EML, a young apple seedling. *African Journal of Biotechnology*, 9: 5320-5325.

## Apéndice

### Solución nutritiva Hoagland

La preparación de 20 litros de solución nutritiva Hoagland consiste en pesar las cantidades indicadas en la siguiente lista y aforar con agua destilada.

#### Solución Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950)

Compuesto	Cantidad
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2.72 g
$\text{KNO}_3$	10.1 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	16.4 g
$\text{MgSO}_4$	4.8 g
EDTA-Fe (5 g/l)	20 ml
Micronutrientes*	20 ml

\*Para preparar la solución de Micronutrientes se pesan las cantidades indicadas y se afora a un litro de agua destilada:

Micronutrientes	Cantidad
$\text{H}_3\text{BO}_3$	2.86 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08 g
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.02 g