

Fluorescencia como indicador de estrés en *Helianthus annuus* L. Una revisión

Fluorescence as an indicator of stress in *Helianthus annuus* L. A review



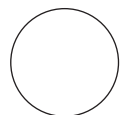
SONIA CONSTANZA JIMÉNEZ-SUANCHA¹
OSCAR HUMBERTO ALVARADO S.²
HELBER ENRIQUE BALAGUERA-LÓPEZ^{3,4}

Flor de girasol en un cultivo de Boyacá (Colombia).
Foto: S. Jiménez

RESUMEN

El girasol es una Asteraceae con alto potencial como planta de corte. Esta planta está expuesta a una amplia fluctuación de condiciones ambientales como luz, temperatura, suministro de agua y nutrientes. Estas condiciones pueden generar estrés sobre las plantas. El girasol presenta resistencia a la sequía, bajas y altas temperaturas. Los efectos del estrés dependen de la intensidad y de la etapa fenológica en que se presente. La fluorescencia puede ser empleada como herramienta para obtener información acerca de la influencia del estrés sobre el estado fisiológico del aparato fotosintético de las plantas y su respuesta será indicadora del daño o alteración en él. El objetivo de la presente revisión es exponer resultados de investigaciones científicas sobre los diferentes tipos de estrés evaluados en *Helianthus annuus* y la forma como ha sido empleada la fluorescencia como un indicador de dicho estrés. Contribuyendo así a ampliar la información disponible sobre esta importante especie.

Palabras clave adicionales: Asteraceae, girasol, fotosistema II, estrés hídrico.



¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Maestría en Fisiología Vegetal, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja (Colombia).

² Facultad de Ciencias Agrarias, Programa de Maestría en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).

³ Facultad de Ciencias, Universidad El Bosque, Bogotá (Colombia).

⁴ Autor para correspondencia. hbalaguera@unbosque.edu.co

ABSTRACT

The sunflower is an Asteraceae with high potential for plant cuttings. It is exposed to widely fluctuating environmental conditions, such as light, temperature, water and nutrients. These conditions can cause stress on the plants. Stress is defined as an external factor that exerts a negative influence on a plant. The sunflower is resistant to drought and low and high temperatures. The effects of stress depend on the intensity and the current phenological stage. Fluorescence can be used as a tool to obtain information about the influence of stress on the physiological state of the photosynthetic apparatus of plants and its response can be indicative of its damage or alteration. This review was done in order to bring together a selection of scientific research data on different types of stress evaluated in *Helianthus annuus* and on how fluorescence has been used as an indicator of stress, thereby contributing to the expansion of information available for this important species.

Additional key words: Asteraceae, sunflower, photosystem II, hydric stress.

Fecha de recepción: 26-03-2015

Aprobado para publicación: 28-05-2015

INTRODUCCIÓN

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es una planta nativa de América del Norte (Zobiolo *et al.*, 2010) perteneciente a la familia de las asteráceas, presenta un alto potencial como planta de corte a nivel nacional y de exportación. Además, presenta numerosas aplicaciones, ya que se puede utilizar en la alimentación tanto humana como animal, en la producción de biodiésel y además presenta importantes propiedades ornamentales y medicinales (Silva *et al.*, 2007). Al ser una planta cultivada, está expuesta a una amplia fluctuación de condiciones ambientales como la luz, la temperatura, la disponibilidad de agua y nutrientes, por lo cual ha aclimatado su actividad fotosintética para ser altamente flexible en estructura y actividad (Loomis y Amthor, 1999).

Cada organismo tiene un rango estrecho de condiciones en las cuales se desarrolla mejor y dentro de ese rango, un punto óptimo, sujeto a la selección natural, que le permite funcionar adecuadamente bajo condiciones ambientales específicas (Ricklefs y Miller, 2000). De tal forma que la disponibilidad de agua y nutrientes en interacción con los factores ambientales regulan el patrón de crecimiento y desarrollo fenológico

de esta oleaginosa (Andrade *et al.*, 2002). Entre las características más importantes del girasol cultivado se encuentran: una extraordinaria resistencia a la sequía, porque tolera la deshidratación temporal de los tejidos, y su sistema radicular muy desarrollado que permite explorar a las raíces hasta los recursos de agua existentes en las capas más profundas; además presenta alta resistencia a las bajas y altas temperaturas, lo que lo hace rústico y con una gran facilidad de adaptación.

El cierre estomático se convierte en una de las primeras y más importantes respuestas de la planta cuando está sometida a condiciones de estrés. Sin embargo, el cierre estomático conlleva a la disminución de la fijación de CO₂, que bajo condiciones de luminosidad puede generar sobreexcitación de los centros de reacción del fotosistema II (PSII) (Ahmed *et al.*, 2009) y la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Ghobadi *et al.*, 2013). Para evitar la sobreexcitación del PSII y los daños del aparato fotosintético, la energía que no toma la vía fotoquímica puede ser disipada principalmente como calor y en menor grado reemitida como energía lu-

minosa de menor energía (fluorescencia). Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de uno de ellos resultará en la disminución de los otros dos (Maxwell y Johnson, 2000; González *et al.*, 2008). Por lo tanto, a través de la medición del rendimiento de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida. La medida de la fluorescencia de la clorofila α , es una técnica no destructiva, ampliamente utilizada en los estudios que involucran respuesta de las plantas a diferentes tipos de estrés ambiental (Oukarroum *et al.*, 2007, 2009).

Diferentes factores como temperaturas extremas, sequía, cambios en la intensidad lumínica, salinidad, deficiencias nutricionales, metales pesados, herbicidas, entre otros, afectan directa o indirectamente el funcionamiento del PSII, generando un cambio en la emisión de la fluorescencia (Santos, 2004; Correia *et al.*, 2006; González *et al.*, 2008; Neto *et al.*, 2011). Por tanto, los cambios en la emisión de la fluorescencia, pueden utilizarse para encontrar mecanismos de respuesta y cuantificación de respuestas al estrés (Maxwell y Johnson, 2000; González *et al.*, 2008). Esta revisión tiene como propósito reportar estudios sobre el conocimiento de la fluorescencia de la clorofila como indicador de diferentes tipos de estrés en *Helianthus annuus* L.

LA FLUORESCENCIA COMO INDICADOR DEL ESTRÉS

La fluorescencia puede emplearse como una herramienta para obtener información acerca del estado fisiológico del aparato fotosintético, y la respuesta será indicadora del daño o alteración en el mismo (Smillie y Hetherington, 1990). La fluorescencia corresponde al espectro de luz entre los 680 y 720 nm emitida por la clorofila α . Esta emisión de luz es una forma de disipar

la energía lumínica y compite por la disipación en forma de calor o en la fotoquímica (Baker, 2008). Lo anterior significa que cuando se mide la fluorescencia en determinadas circunstancias se puede conocer la eficiencia de los otros dos procesos (fotoquímica y disipación en forma de calor).

Es posible medir los parámetros de la fluorescencia, que en el estudio de la fotosíntesis en particular, es un método que, además de ser no destructivo, permite analizar cualitativa y cuantitativamente la absorción y la utilización de la energía de la luz a través del PSII y la posible relación con la capacidad fotosintética (Mouget y Tremblin, 2002; Neto *et al.*, 2005). Los cambios en la fluorescencia como una respuesta al estrés abiótico en las plantas han sido demostrados (Baker, 2008) y son útiles para identificar plantas tolerantes a salinidad (Percival y Fraser, 2001; Glynn *et al.*, 2003) o plantas con deficiencia de nitrógeno (Ciompi *et al.*, 1996).

La fluorescencia basal (F_0) es la emitida cuando Q_A (quinona, receptora primaria de electrones en el PSII) está completamente oxidada y el centro de reacción de PSII está abierto, situación inminente en la activación de las reacciones fotoquímicas (Mouget y Tremblin, 2002). Neto *et al.* (2011) encontraron que entre plantas sin estrés las variables F_0 y la eficiencia cuántica potencial del PSII (F_v/F_m , relación entre fluorescencia variable y máxima) fueron similares. Mientras que en plantas bajo estrés hídrico la F_0 aumentó significativamente. La F_0 es independiente de los eventos fotoquímicos y su aumento puede tener dos causas: daños en el centro de reacción del PSII o una reducción de la capacidad para transferir la energía de excitación de la antena hacia el centro de reacción (Baker y Rosenqvst, 2004; Baker, 2008).

La relación F_v/F_m es una estimación de la eficiencia cuántica máxima de la actividad fotoquímica del PSII cuando todos los centros de reacción del PSII están abiertos (Baker y Rosenqvst, 2004).

Teniendo en cuenta que una disminución en la relación F_v/F_m indica una reducción en la eficiencia fotoquímica del PSII y una perturbación o daños en el aparato fotosintético, esta relación ha sido empleada para detectar perturbaciones en el sistema fotosintético causadas por el estrés salino (Glynn *et al.*, 2003; Percival y Fraser, 2001). Varios autores reportan que, en girasol, la relación F_v/F_m está entre 0,7 y 0,85 y que bajo condiciones estresantes esta relación disminuye (Akram *et al.*, 2012; Neto *et al.*, 2011; Poormohammad Kiani *et al.*, 2008), sin embargo, otros autores reportan que valores de 0,6 pueden ser normales en determinados genotipos (Ghobadi *et al.*, 2013).

De igual forma, Lichtenthaler *et al.* (2005) recomiendan determinar la relación F_v/F_0 para detectar los cambios inducidos por el estrés, ya que contiene la misma información básica pero además amplifica pequeñas variaciones detectadas por la relación F_v/F_m , es decir, la proporción F_v/F_0 , difiere con F_v/F_m en que es mucho más sensible, no solo contiene la información básica sino que presenta los valores más altos y un mayor rango dinámico en comparación con F_v/F_m mostrando mayor amplitud en condiciones de estrés, ya que todos los cambios de F_v y/o F_0 se reflejan inmediatamente en él. Días de Azevedo *et al.* (2011) reportan una disminución del 47% en la relación F_v/F_0 en plantas de girasol estresadas en comparación con el testigo.

Por otra parte, la eficiencia cuántica efectiva (YII) indica la porción de energía absorbida por la clorofila, asociada al PSII, que es utilizada en la actividad fotoquímica y, por tanto, refleja la cantidad de electrones transportados, convirtiéndose en un indicador de la fotosíntesis (Lichtenthaler *et al.*, 2005). El factor determinante de esta eficiencia es la habilidad con que los electrones son removidos de la quinona receptora del PSII, la que está directamente relacionada con la tasa de consumo de ATP y NADPH, productos del transporte fotosintético de electrones (Baker y Rosenqvst, 2004; Neto *et al.*, 2005).

Cuando las plantas están expuestas a la luz, los centros de reacción del PSII se reducen o cierran progresivamente, ocurriendo con ello un aumento de la fluorescencia de la clorofila. Luego de ello, la fluorescencia decae en un fenómeno llamado disipación de la fluorescencia (*quenching*). Dos parámetros básicos describen la disipación de la fluorescencia variable de la clorofila durante el periodo de inducción de la radiación: una disipación fotoquímica y una disipación no fotoquímica de la fluorescencia variable de la clorofila (Lichtenthaler *et al.*, 2005).

La disipación fotoquímica (q_P) se inicia debido al aumento de electrones exportados por el PSII, a la activación de las enzimas implicadas en el metabolismo del carbono y la apertura de los estomas (Baker y Rosenqvst, 2004; Flexas *et al.*, 2002). Por tanto, q_P cuantifica la capacidad fotoquímica del PSII, y corresponde a la cantidad de centros de reacción del PSII abiertos. Por su parte, la disipación no fotoquímica (q_N) refleja la activación de los procesos no fotoquímicos que conducen principalmente a la disipación de energía no radiante, tales como cambios en el gradiente de pH transtilacoidal, fotoinhibición, desconexión de los complejos captadores de luz, formación de zeaxantina, etc. (Rohaček, 2002).

Al igual que los procesos mencionados anteriormente, también otros utilizados que con frecuencia conllevan a la descomposición de la fluorescencia máxima de la clorofila, tales como la disipación no fotoquímica completa de la fluorescencia de la clorofila (q_{CN}) y la disipación no fotoquímica de Stern-Volmer (NPQ). A diferencia de q_N , estos parámetros no requieren una determinación de la fluorescencia mínima bajo condiciones de iluminación (Lichtenthaler *et al.*, 2005). La q_{CN} hace referencia a los procesos de disipación de energía relacionados con los dos, disipación no fotoquímica de la fluorescencia variable (q_N) y el cambio relativo de F_0 . Por consiguiente, q_{CN} se puede utilizar como un indicador de la disipación de energía no radiante dentro de las membranas de los tilacoides, es decir, cuan-

tifica los procesos de disipación de calor dentro del complejo PSII. NPQ también cuantifica los procesos que conducen a la disminución de la fluorescencia máxima. Sin embargo, NPQ indica la disipación del exceso de energía radiante en forma de calor en el complejo antena PSII, es decir, fotoprotección inducida por la luz a través de disipación térmica de energía, lo cual está estrechamente relacionado con la formación de zeaxantina (Rohaček y Bartak, 1999).

ESTRÉS HÍDRICO POR SEQUÍA

El agua es esencial para las plantas ya que participa en la mayoría de procesos fisiológicos que se ven implicados en el crecimiento y la productividad de las mismas. Por esta razón, la sequía es uno de los tipos de estrés más comunes al que se ven sometidas las plantas y el cual puede llegar a limitar la productividad agrícola a nivel mundial (Molina-Montenegro *et al.*, 2011). Según Taiz y Zeiger (2010), cuando el estrés hídrico es grave, dependiendo de la especie, la deshidratación de las células del mesófilo inhibe la fotosíntesis, se desajusta el metabolismo del mesófilo y el uso eficiente del agua desciende. Los resultados de muchos estudios han demostrado que el efecto relativo del estrés sobre la conductancia estomática es significativamente mayor que sobre la fotosíntesis. Sin embargo, según Molina-Montenegro *et al.* (2011), pequeñas disminuciones en la disponibilidad hídrica, pueden permitir al cultivo mantener una elevada tasa fotosintética y una alta productividad, dependiendo de la especie.

Plantas de girasol sometidas a un estrés por sequía y a una radiación de $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ presentaron un aumento en la disipación de energía en forma de calor (NPQ), se disminuyó la eficiencia máxima real del PSII (YII) y el transporte de electrones. Estos cambios están acompañados por un aumento de la peroxidación lipídica (Correia *et al.*, 2006). La rehidratación de estas plantas hace que se recupere la capacidad del PSII, esto demuestra que no hubo un daño permanen-

te en el PSII y es corroborado por valores de F_v/F_m entre 0,8-0,83 (Correia *et al.*, 2006). Aunque Correia *et al.* (2006) no observaron cambios en F_v/F_m , Ghobadi *et al.* (2013) reportan que bajo un estrés severo este índice disminuye bajo una alta radiación. Por lo que se deduce que la disminución de la eficiencia máxima potencial del PSII bajo una sequía solo se presenta cuando el estrés es severo.

En plantas de girasol bajo un estrés hídrico, la disipación fotoquímica de la fluorescencia (qP) disminuye cuando se limita la fotorrespiración (concentración de oxígeno del 2,5%) (Scheuermann *et al.*, 1991). Esto se debe a que la fotorrespiración también mantiene el flujo de electrones en los fotosistemas y al disminuir los requerimientos de ATP para fijar oxígeno (fotorrespiración), la tasa de flujo de electrones disminuye. Lo anterior a su vez provoca un aumento de la disipación de la energía lumínica en forma de calor.

ESTRÉS HÍDRICO POR INUNDACIÓN

La sobresaturación del suelo implica el rápido desarrollo de anoxia o hipoxia en la planta, afectando la absorción de agua y nutrientes (Boru *et al.*, 2003; Araki, 2006) y diferentes procesos fisiológicos como la fotosíntesis, respiración y senescencia de la hoja (Liao y Lin, 2001; Bange *et al.*, 2004). Chapman y De la Vega (2002) reportan que con excesivas precipitaciones durante el llenado del grano, se disminuyen los rendimientos del cultivo de girasol. Al parecer, estas pérdidas pueden estar relacionados con la baja radiación, debida a la alta nubosidad, o con el aumento de la incidencia de enfermedades (Mercau *et al.*, 2001). De tal manera que el deterioro de procesos fisiológicos, directamente vinculados a la inundación transitoria, podría reducir el rendimiento.

Grassini *et al.* (2007) encontraron en girasol que el anegamiento en periodos cortos (1 a 6 días) durante el llenado del grano, puede disminuir el rendimiento, independientemente de los efectos

que pueden causar una baja radiación o posibles enfermedades comunes en sitios con aumento en su nivel normal de precipitación durante la fase de desarrollo del cultivo. El girasol es más vulnerable a la inundación durante el llenado del grano comparado con las fases tempranas del desarrollo, aunque se aclara que la respuesta al estrés depende también de las características del suelo y el ambiente donde se encuentran las plantas (Grassini *et al.*, 2007).

Estudios que evalúen la capacidad fotosintética del girasol bajo inundación son muy pocos, lo mismo sucede con la familia Asteraceae. En girasol se ha evaluado el efecto de la inundación sobre la concentración hormonal (Phillips, 1964) y sobre el crecimiento (Wample y Reid, 1975) pero muy poco sobre la capacidad fotosintética. En *Boltonia decurrens* (Asteraceae), la inundación reduce la asimilación de CO₂, pero no la eficiencia potencial del PSII (F_v/F_m) (Pienkowski *et al.*, 1998). En general, la inundación disminuye la eficiencia cuántica real del PSII y aumenta la disipación no fotoquímica, estos efectos incrementan al aumentar la duración del estrés (Else *et al.*, 2009) o la intensidad lumínica (Waldhoff *et al.*, 2002). Sin embargo, la intensidad del estrés y las demás condiciones ambientales (luz, concentración de CO₂) necesarias para disminuir la actividad fotosintética dependen del genotipo, por lo que es necesario hacer estudios específicos en girasol.

METALES PESADOS Y NUTRICIÓN

Elementos como el N, Mg, Mn afectan directamente la fotosíntesis al formar parte de moléculas fundamentales como la clorofila o los fotosistemas. Mientras otros son fundamentales en el metabolismo de las plantas; el P como componente de ácidos nucleicos y de moléculas ricas en energía, el K como osmorregulador celular, el Ca como componente estructural de las paredes celulares (Hawkesford *et al.*, 2012). Estos y los demás elementos esenciales afectan de alguna forma la capacidad fotosintética de la planta y

en algunos casos su déficit o exceso perjudica la misma. Otros elementos como Cd, Cr, Ni, Ar, Pb perjudican la fotosíntesis de las plantas (Gupta *et al.*, 2013).

Fournier *et al.* (2005) realizaron un estudio evaluando plantas de girasol cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes niveles de K⁺ (entre 0,5 y 2,5 mM) con el fin de estudiar su efecto sobre el flujo del agua, encontrando que estas concentraciones no provocan cambios significativos en el crecimiento de las plantas, pero sí evidenciaron diferencias entre el contenido interno de K⁺ y la capacidad de absorción de agua. Aunque los efectos de la aplicación o deficiencia de K⁺ son evidentes en variables relacionadas con intercambio gaseoso, en relación a la eficiencia del PSII se conoce poco y solo se reporta que la aplicación de este elemento no tiene un efecto significativo sobre la eficiencia máxima potencial de plantas de girasol bajo estrés salino ni bajo condiciones no estresantes (Saeed *et al.*, 2009a).

Se reporta que el estrés por deficiencia de nitrógeno no genera cambio en el valor de F₀, mientras que el F_{max} incrementa de forma significativa en plantas estresadas de girasol (Ciompi *et al.*, 1996). Hay que aclarar que estos valores deben ser evaluados teniendo en cuenta que los valores absolutos de F₀ y F_{max} son válidos solo cuando el contenido de clorofila α no cambia como consecuencia del estrés. Ciompi *et al.* (1996) reportan que en plantas bajo estrés por deficiencia de nitrógeno el q_p aumenta, indicando que el aceptor primario de electrones del PSII, Q_A está oxidado. Por otro lado, el rendimiento cuántico de la eficiencia fotoquímica del PSII no se ve afectado, al parecer porque la deficiencia de nitrógeno no interfiere con las reacciones luminosas de la fotosíntesis.

Por otra parte, el girasol es una planta hiperacumuladora de metales pesados por lo que en varios estudios se usa como fitorremediador. Para que una planta sea hiperacumuladora de metales pesados debe ser capaz de absorber y

retener en la parte aérea 10 mg g^{-1} de Zn o Mn, 1 mg g^{-1} de Ni, Co, Cr, Cu o Pb ó $0,1 \text{ mg g}^{-1}$ de As o Cd (January *et al.*, 2008). Sin embargo, los metales pesados también perjudican el crecimiento y rendimiento del girasol. El Ni (Ahmad *et al.*, 2011), Cr (Fozia *et al.*, 2008) y Cd (Di Cagno *et al.*, 1999) afectan el crecimiento de la raíz, del tallo y reducen el rendimiento. Estos efectos están acompañados por una menor concentración foliar de elementos esenciales y una mayor acumulación del metal pesado. La absorción y daños causados por estos metales depende del tipo del suelo, de la presencia de compuestos quelatantes (Turgut *et al.*, 2005) y de la interacción con otros elementos minerales (January *et al.*, 2008).

El Cd afecta negativamente la capacidad fotosintética de plántulas de girasol, pero no de plantas adultas, esto ocurre por una disminución de la capacidad fotoquímica y un aumento de la disipación no fotoquímica (Di Cagno *et al.*, 1999). El efecto negativo del cadmio puede ser aliviado o más severo si se combina con aplicaciones de nitrógeno. Panković *et al.* (2000) demostraron que una dosis baja (2 mM) o muy alta (10 mM) de nitrato, aplicado a plantas creciendo en una solución de $5 \mu\text{M}$ de Cd, aumenta el efecto negativo sobre la eficiencia real del PSII y sobre la disipación fotoquímica. El Pb provoca efectos similares; reduce la asimilación de CO_2 y la eficiencia real del PSII, pero aumenta la disipación en forma de calor. Estos efectos son más severos al aumentar la intensidad lumínica de 100 a $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Kastori *et al.*, 1998).

ESTRÉS POR RADIACIÓN ULTRAVIOLETA-B

El agotamiento de la capa de ozono producto de los clorofluorocarbonos está estrechamente relacionado con el aumento de la radiación UV-B en la superficie de la Tierra (Kerr y McElroy, 1993). La radiación solar en el rango UV-B

(280-320 nm) corresponde a un porcentaje menor de la energía solar total, sin embargo, es potencialmente dañina ya que estas longitudes de onda cortas son capaces de causar deterioros a nivel celular. Por esta razón, las plantas son vulnerables al aumento de la radiación UV-B debido a que muchos componentes celulares, tales como ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y quinonas pueden absorber la radiación UV-B directamente (Jordan, 1996), independientemente de estar cultivadas bajo invernadero o a campo abierto. Los efectos de la radiación UV-B pueden ir desde una reducción en el crecimiento, causada por su influencia sobre la división y elongación celular (Hopkins *et al.*, 2002), hasta una reducción de la tasa fotosintética, posiblemente como consecuencia de los daños a los diversos mecanismos moleculares de la maquinaria fotosintética (Jansen *et al.*, 1998), más pronunciado bajo condiciones de invernadero (Kakani *et al.*, 2003).

La radiación UV (315-400 nm) es la región del espectro de luz (300-750 nm) más dañino para el PSII (Takahashi *et al.*, 2010). Esta radiación daña el cluster Mn_4Ca y las moléculas aceptores y donadoras de electrones y produce especies reactivas de oxígeno las cuales también dañan los fotosistemas y las membranas tilacoidales (Vass, 2012). Debido a esto, en varios estudios se ha demostrado que la fluorescencia de la clorofila α sirve para diagnosticar daños en el PSII producidos por la radiación UV (Guidi y Degl'Innocenti, 2012).

La radiación UV-B no afecta la biomasa, materia seca de brotes, peso específico de las hojas ni compuestos absorbentes de UV-B del girasol cultivado en invernadero y esto se debe a la temprana etapa de desarrollo en la que se impuso el estrés (Cechin *et al.*, 2007), ya que la planta puede aumentar el espesor de la hoja como respuesta al estrés por radiación UV-B (Liu *et al.*, 2005) disminuyendo de esta forma el daño UV-B, de lo contrario, al no darse un incremento en el espesor de la hoja la radiación UV-B alcanza el

mesófilo y puede afectar el proceso de fotosíntesis. Por esta razón, la radiación UV-B inhibió significativamente la fotosíntesis acompañada por una reducción en la conductancia estomática y en la transpiración, aunque el contenido total de clorofila y la eficiencia máxima potencial del PS II no se vieron afectados. En general, el estudio de Cechin *et al.* (2007) sugiere que a pesar de que la biomasa seca no se afecte, el nivel actual de radiación UV-B solar afecta el rendimiento de las plantas de girasol.

ESTRÉS SALINO

La producción agrícola en grandes áreas del mundo se ha visto limitada por la salinidad ya que se evidencian significativas reducciones en zonas de riego con agua salina. La salinidad reduce el crecimiento, la fotosíntesis (Shahbaz *et al.*, 2011) y el rendimiento del girasol. Aunque la resistencia o tolerancia a la salinidad depende del genotipo, en general una concentración superior a 100 mM de NaCl en el sustrato perjudica los procesos fisiológicos. La salinidad reduce la asimilación de CO₂, la conductancia estomática, el contenido de K, el crecimiento de la raíz y la parte aérea y a su vez aumenta la acumulación de prolina, la concentración de Na y Cl, y la permeabilidad membranal (Saeed *et al.*, 2009b; Shahbaz *et al.*, 2011). Lo anterior reduce la producción de aquenios (Shahbaz *et al.*, 2011).

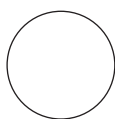
Días de Azevedo *et al.* (2011) realizaron un estudio donde examinaron en detalle los posibles cambios inducidos por el estrés salino en los diferentes parámetros de la fluorescencia de la clorofila en diez genotipos de girasol, encontrando que los genotipos AG-960 y AG-975 presentan resultados contrastantes, en todas las variables, siendo calificados así como sensible y tolerante al estrés salino, respectivamente. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la fluorescencia de la clorofila puede ser usada como una herramienta para la selección de genotipos de girasol tolerantes a la salinidad.

El daño en el PSII (representado como la relación F_v/F_m) depende de la concentración de la sal, del genotipo y de la duración de estrés. Mientras Akram *et al.* (2012) encontraron que no había un daño significativo en el PSII de plantas de girasol bajo estrés salino (150 mM de NaCl durante 15 d), Santos (2004) determinó que sí existía daño en el fotosistema cuando la concentración de NaCl es superior a 50 mM, y que el efecto era más severo cuando el estrés salino permanecía por más de 7 días.

En concordancia, en plantas de girasol sometidas a estrés salino, la relación F_v/F_m se redujo en un 18% en comparación con el testigo, el YII disminuyó en un 64% en algunos genotipos y solo 34% en otros, mientras que el q_p se redujo del 41% en algunos genotipos de girasol, pero en otros el q_p no se ve afectado por la salinidad (Días de Azevedo *et al.*, 2011). El aumento en los valores de q_p en función de la salinidad, a la par con la disminución de la fotosíntesis neta indica un aumento de la participación de un sumidero de electrones alternativo, tal como la fotorrespiración (Heber, 2002; Schreiber y Bilger, 1987; Ribeiro *et al.*, 2004). Teniendo en cuenta que el estrés salino reduce la tasa de fotosíntesis neta en la planta, Días de Azevedo *et al.* (2011) sugieren que entre mayor sea esta reducción mayor será la falta de capacidad de la planta para canalizar el flujo de electrones hacia la síntesis de NADPH.

CONCLUSIONES

La fluorescencia puede ser empleada como una herramienta para obtener información acerca de la influencia del estrés sobre el estado fisiológico del aparato fotosintético de las plantas y su respuesta será indicadora del daño o alteración en él. La fluorescencia como indicador de estrés en girasol ha sido usada en condiciones de sequía o salinidad y metales pesados, sin embargo en otras condiciones como inundación, radiación UV-B y déficit nutricional se ha investigado poco.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, M.S.A., M. Ashraf y M. Hussain. 2011. Phytotoxic effects of nickel on yield and concentration of macro- and micro-nutrients in sunflower (*Helianthus annuus* L.) achenes. *J. Hazard. Mater.* 185(2-3), 1295-1303. Doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.10.045
- Ahmed, C.B., Rouina, B.B., Sensoy, S., Boukhris, M. y F.B. Abdallah, 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in threolive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environ. Exp. Bot.* 67, 345-352. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.07.006
- Akram, N. A., M. Ashraf y F. Al-Qurainy. 2012. Amino-levulinic acid-induced changes in some key physiological attributes and activities of antioxidant enzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under saline regimes. *Sci. Hortic.* 142, 143-148. Doi: 10.1016/j.scienta.2012.05.007
- Andrade, F. H., L.A. Aguirrezábal y R.H. Rizzalli. 2002. Crecimiento y rendimiento comparados. pp. 57-96. En: Andrade F.H. y V.O. Sadras (eds.). Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. 2ª ed. E.E.A. INTA Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.
- Araki, H. 2006. Water uptake of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during exposure to O₂ deficiency and field level CO₂ concentration in the root zone. *Field Crops Res.* 96, 98-105. Doi: 10.1016/j.fcr.2005.05.007
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59, 89-113. Doi: 10.1146/annurev.arplant
- Baker, N.R. y Rosenqvst, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 55(403), 1607-1621. Doi: 10.1093/jxb/erh196
- Bange, M.P., Milroy, S.P. y Thongbai, P. 2004. Growth and yield of cotton in response to waterlogging. *Field Crops Res.* 88, 129-142. Doi: 10.1016/j.fcr.2003.12.002
- Boru, G., T. Van Toai, J. Alves, D. Hua y M. Knee. 2003. Responses of soybean to oxygen deficiency and elevated root-zone carbon dioxide concentration. *Ann. Bot.* 91, 447-453.
- Cechin, I., T. Fumis y A. Dokkedal. 2007. Growth and physiological responses of sunflower plants exposed to ultraviolet-B radiation. *Cienc. Rural* 37(1), 85-90. Doi: 10.1590/S0103-84782007000100014
- Chapman, S.C. y A.J. de la Vega, 2002. Spatial and seasonal effects confounding interpretation of sunflower yields in Argentina. *Field Crops Res.* 73, 107-120. Doi: 10.1016/S0378-4290(01)00185-X
- Ciampi, S., E. Gentili, L. Guidi y G. Soldatini. 1996. The effect of nitrogen deficiency on leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in sunflower. *Plant Sci.* 118, 177-184.
- Correia, M.J., M.L. Osório, J. Osório, I. Barrote, M. Martins y M.M. David. 2006. Influence of transient shade periods on the effects of drought on photosynthesis, carbohydrate accumulation and lipid peroxidation in sunflower leaves. *Environ. Exp. Bot.* 58 (1-3), 75-84. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.06.015
- Di Cagno, R., L. Guidi, A. Stefani y G.F. Soldatini. 1999. Effects of cadmium on growth of *Helianthus annuus* seedlings: Physiological aspects. *New Phytologist* 144(1), 65-71.
- Else, M.A., F. Janowiak, C.J. Atkinson y M.B. Jackson. 2009. Root signals and stomatal closure in relation to photosynthesis, chlorophyll a fluorescence and adventitious rooting of flooded tomato plants. *Ann. Bot.* 103(2), 313-323.
- Flexas, J., J.M. Escalona, S. Evain, J. Gulías, I. Moya, C.B. Osmond y H. Medrano. 2002. Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stress in C3 plants. *Physiol. Plant.* 114(02), 231-240.
- Fournier, J., A. Roldán, C. Sánchez, G. Alexandre y M. Benlloch. 2005. K⁺ starvation increases water uptake in whole sunflower plants. *Plant Sci.* 168, 823-829.
- Fozia, A., A.Z. Muhammad, A. Muhammad y M.K. Zafar. 2008. Effect of chromium on growth attrib-

- tes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). J. Environ. Sci. 20 (12), 1475-1480.
- Ghobadi, M., S. Taherabadi, M.E. Ghobadi, G.R. Mohammadi y S. Jalali-Honarmand. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. Ind. Crops Prod. 50(0), 29-38. Doi: 10.1016/j.indcrop.2013.07.009
- Glynn, P., C. Fraser y A. Gillian. 2003. Foliar salt tolerance of Acer genotypes using chlorophyll fluorescence. J. Arboriculture 29(02). 61-65.
- González, S., H. Perales y M. Salcedo. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. REB 27(4), 119-129.
- Grassini, P., G. Indaco, M. Lopez, A. Hall y N. Trapani. 2007. Responses to short-term waterlogging during grain filling in sunflower. Field Crops Res. 101, 352-363.
- Guidi, L. y E. Degl'Innocenti. 2012. Chlorophyll a fluorescence in abiotic stress. pp. 359-398. In: Venkateswarlu, B., A.K. Shanker, C. Shanker y M. Maheswari (eds.). Crop stress and its management: Perspectives and strategies. Springer, The Netherlands. Doi: 10.1007/978-94-007-2220-0_10
- Gupta, D., H. Vandenhove y M. Inouhe. 2013. Role of phytochelatin in heavy metal stress and detoxification mechanisms in plants. pp. 73-94. En: Gupta, D.K., F.J. Corpas y J.M. Palma (eds.). Heavy metal stress in plants. Springer. Berlin.
- Hawkesford, M., W. Horst, T. Kichey, H. Lambers, J. Schjoerring, I.S. Møller y P. White. 2012. Functions of macronutrients. pp. 135-189. En: Marschner, P. (ed.). Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3th ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Heber, U. 2002. Irrungen, Wirrungen?. The Mehler reaction in relation to cyclic electron transport in C3 plants. Photosynth. Res. 73(1-3), 223-231.
- Hopkins, L., M.A Bond y K. Tobin. 2002. Ultraviolet-B radiation reduces the rates of cell division and elongation in the primary leaf wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Maris Huntsman). Plant Cell Environ. 25, 617-624.
- Jansen, M.A.K., V. Gaba y B.M. Greenberg. 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. Trends Plant Sci. 3(4), 131-135.
- January, M.C., T.J. Cutright, H.V. Keulen y R. Wei. 2008. Hydroponic phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: Can *Helianthus annuus* hyperaccumulate multiple heavy metals? Chemosphere 70(3), 531-537.
- Jordan, B.R. 1996. The effects of ultraviolet-B radiation on plants: a molecular perspective. Adv. Bot. Res. 22, 97-162.
- Kakani, V.G., K.R. Reddy, D. Zhao y K. Sailaja. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. Agr. For. Meteor. 120(1-4), 191-218.
- Kastori, R., M. Plesničar, Z. Sakač, D. Panković y I. Arsenijević-Maksimović. 1998. Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis. J. Plant Nutr. 21(1), 75-85.
- Kerr, J.B. y C.T. McElroy. 1993. Evidence for large upward trends of ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion. Sci. 262, 1032-1034.
- Liao, T. y H. Lin. 2001. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. Proc. Natl. Sci. Council. 25, 148-157.
- Lichtenthaler, H.K., C. Buschmann y M. Knapp. 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{fd} of leaves with the PAM fluorometer. Photosynthetica 43(3), 379-393.
- Liu, L.X., S.M. Xu y K.U. Woo. 2005. Solar UV-B radiation on growth, photosynthesis and the xanthophyll cycle in tropical acacias and eucalyptus. Environ. Exp. Bot. 54(2), 121-130. Doi:10.1016/j.envexpbot.2004.06.006
- Loomis, R. y J. Amthor. 1999. Yield potential, plant assimilatory capacity and metabolic efficiencies. Crop Sci. 39, 1584-1596.
- Maxwell, K. y G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence. A practical guide. J. Exp. Bot. 51(345), 659-668.
- Mercau, J.L., V.O. Sadras, E.H. Satorre, C. Messina, C. Balbi, M. Uribelarrea y A.J. Hall. 2001. On-farm assessment of regional and seasonal variation in sunflower yield in Argentina. Agric. Syst. 67, 83-103.
- Molina-Montenegro, M., A. Zurita-Silva y R. Oses. 2011. Efecto de la disponibilidad hídrica sobre el desempeño fisiológico y productivo de un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). Cienc. Inv. Agr. 38(1), 65-74.

- Mouget, J. y G. Tremblin. 2002. Suitability of the fluorescence monitoring system (FMS, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. *Aquatic Bot.* 74, 219-231.
- Neto, A.D.d.A., P., Amorim, D. Pereira y A. Conceição. 2011. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girasol. *Rev. Cienc. Agron.* 42(4), 893-897.
- Neto, A.T., E. Campostrini, G.J. Oliveira y R.E. Bressan-Smith. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Sci. Hortic.* 104(2), 199-209. Doi: 10.1016/j.scienta.2004.08.013
- Oukarroum, A., S.E., Madidi, G. Schansker y R.J. Strasser. 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environ. Exp. Bot.* 60, 438-446.
- Oukarroum, A., G. Schansker y R.J. Strasser. 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiol. Plant.* 137, 188-199.
- Panković, D., M. Plesničar, I. Arsenijević-Maksimović, N. Petrović, Z. Sakač y R. Kastori. 2000. Effects of nitrogen nutrition on photosynthesis in Cd-treated sunflower plants. *Ann. Bot.* 86(4), 841-847.
- Percival, G.C. y S.A. Fraser. 2001. Measurement of the salinity and freezing tolerance of *Crataegus* genotypes using chlorophyll fluorescence. *J. Arboriculture* 27(5), 233-245.
- Phillips, I.D.J. 1964. Root-shoot Hormone Relations I. The Importance of an aerated root system in the regulation of growth hormone levels in the shoot of *Helianthus annuus*. *Ann. Bot.* 28(1), 17-35.
- Pienkowski, M. W., A.R. Watkinson, G. Kerby, M. Smith y J.S. Moss. 1998. An experimental investigation, using stomatal conductance and fluorescence, of the flood sensitivity of *Boltonia decurrens* and its competitors. *J. Applied Ecol.* 35(4), 553-561.
- Poormohammad Kiani, S., P. Maury, A. Sarrafi y P. Grieu. 2008. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Sci.* 175, 565-573. Doi: 10.1016/j.plantsci.2008.06.002
- Ribeiro, R.V., E.C. Machado y R.F. Oliveira. 2004. Growth and leaf temperature effects on photosynthesis of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Plant Pathol.* 53(3), 334-340.
- Ricklefs, R.E. y G.L. Miller. 2000. *Ecology*. 4th ed. Freeman and Company, New York, NY.
- Rohaček, K. 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica* 40(1), 13-29.
- Rohaček, K. y M. Bartak. 1999. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica* 37(03), 339-363.
- Saeed, M., M. Ashraf, M. Shahbaz y N. Aisha. 2009a. Growth and photosynthesis of salt-stressed sunflower (*Helianthus annuus*) plants as affected by foliar-applied different potassium salts. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172(6), 884-893. Doi: 10.1002/jpln.200900102
- Saeed, M., M. Ashraf y N. Aisha. 2009b. Effectiveness of potassium sulfate in mitigating salt-induced adverse effects on different physio-biochemical attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Flora* 204(6), 471-483. Doi: 10.1016/j.flora.2008.05.008
- Santos, C.V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Sci. Hortic.* 103(1), 93-99. Doi: 10.1016/j.scienta.2004.04.009
- Scheuermann, R., K. Biehler, T. Stuhlfauth y H. Fock. 1991. Simultaneous gas exchange and fluorescence measurements indicate differences in the response of sunflower, bean and maize to water stress. *Photosynth. Res.* 27(3), 189-197.
- Schreiber, U. y W. Bilger. 1987. Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. En: Tenhunen, J.D., F.M. Catarino, O.L. Lange y W.C. Oechel (eds.). *Plant response to stress*. Springer-Verlag, Berlín.
- Shahbaz, M., M. Ashraf, N. Akram, A. Hanif, S. Hameed, S. Joham y R. Rehman. 2011. Salt-induced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content and ion accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Acta Physiol Plant.* 33(4), 1113-1122. Doi: 10.1007/s11738-010-0639-y
- Silva, M.L.O., M.A. Faria, A.R. de Moraes, G.P. Andrade y E. Lima. 2007. Crescimento e produtividade do girasol cultivado na entressafra com diferentes lâminas de água. *Rev. Bras. Eng. Agr. Amb.* 11(5), 482-488.
- Smillie R.M. y S.E. Hetherington. 1990. Screening for stress tolerance by chlorophyll fluorescence. pp.

- 229-233. En: Hashimoto, Y., P.J. Kramer, H. Nonami y R.B. Strain (eds.). *Techniques in Plant Science*. Academic Press, San Diego, CA.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology*. 5th ed. Sinauer Associates. Sunderland, MA.
- Takahashi, S., S.E. Milward, W. Yamori, J.R. Evans, W. Hillier y M.R. Badger. 2010. The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiol.* 153, 988-993. Doi: 10.1104/pp.110.155747
- Turgut, C., M.K. Pepe y T.J. Cutright. 2005. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. *Chemosphere* 58(8), 1087-1095.
- Vass, I., 2012. Molecular mechanisms of photodamage in the Photosystem II complex. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 209-17. Doi: 10.1016/j.bbabi.2011.04.014
- Waldhoff, D., B. Furch y W.J. Junk. 2002. Fluorescence parameters, chlorophyll concentration, and anatomical features as indicators for flood adaptation of an abundant tree species in Central Amazonia: *Symmeria paniculata*. *Environ. Exp. Bot.* 48(3), 225-235.
- Wample, R. y D. Reid. 1975. Effect of aeration on the flood-induced formation of adventitious roots and other changes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Planta* 127(3), 263-270.
- Zobiolo, L.H.S., C. de Castro, F.A. de Oliveira y A.d.O. Junior. 2010. Marcha de absorcao de macronutrientes na cultura do girassol. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 34(2), 425-433. Doi: 10.1590/S0100-06832010000200016