

FOTOCONTROL DE SÍNTESIS DE CLOROFILAS EN DOS VARIEDADES COMERCIALES DE *CITRULLUS VULGARIS* L.

por

R. RAMIREZ y M. N. VILLALOBOS

Abstract. The photoperiodic behaviour of chlorophylls synthesis in two commercial varieties of *Citrullus vulgaris* water cotyledons is different. In both the synthesis is bimaximal without coincidence in these nor chlorophylls *a/b* ratio. The phytochrome control of the chlorophylls synthesis is showed Pfr act as inductor of the chlorophylls synthesis in *Citrullus vulgaris* var. *reina*.

Resumen. El comportamiento fotoperiódico de la síntesis de clorofila, en cotiledones de plántulas pertenecientes a dos variedades comerciales de *Citrullus vulgaris*, es diferente. En ambos casos las respuestas son bimaximales no coincidiendo los días de iluminación en que se dan tales máximos de síntesis ni la relación clorofila *a*/clorofila *b*. Se confirma la existencia de control por fitocromo sobre la síntesis de clorofila. La forma infrarroja de fitocromo actúa como inductor de la síntesis en *C. vulgaris* var. com. *reina*.

I N T R O D U C C I Ó N

La morfogénesis cloroplástica es el resultado del acoplamiento de una serie de procesos entre los que destacaremos como esencial el establecimiento de pigmentos fotosintéticamente activos que constituirán posteriormente los fotosistemas. En la síntesis de dichos pigmentos coinciden los factores regulados por la luz: fotocontrol a nivel de fitocromo y fototransformación de protoclorofilida en clorofilida. Con respecto al primer factor, no existe una idea clara sobre cuál es el punto de acción del fitocromo en el proceso de síntesis. Ahora bien, sí se puede afirmar que existe un control por parte de este fotorreceptor, y que el centro de reacción para la regulación fotomorfogénica de una hoja durante enverdecimiento se encuentra situado en una misma hoja.

LIRO (1909), trabajando con diferentes semillas germinadas en obscuridad, observa que al someterlas a luz blanca continua se produce una fase de latencia en la síntesis de clorofilas, cuya duración dependerá del periodo previo de obscuridad. Así, semillas de judía (*Phaseolus vulgaris*) cuyo periodo de germinación en obscuridad fue de ocho días, muestran una fase de latencia de dos horas antes de la rápida formación de clorofilas. Esta fase de latencia desaparece por preirradiación con una pequeña cantidad de luz roja (660) seguida de incubación en obscuridad (de 5 a 15 horas) antes de transferirlas a iluminación blanca continua (WITHROW, R. B., WOLFF, J. & PRICE, L., 1965). Este efecto estimulador de la luz roja puede ser anulado con tratamiento de luz infrarroja inmediatamente después de la corta irradiación roja (PRICE, L. & KLEIN, W. H., 1961). VIRGIN (1961) estudiando el espectro de acción para la eliminación de la fase de letargo de la síntesis de clorofilas en hojas de trigo, encuentra un máximo de inducción morfogénica a 660 nm. El efecto antagonista entre luz roja e infrarroja y la longitud de onda correspondiente al máximo del espectro de acción, indican que el fitocromo es el fotorreceptor actuando como regulador de la síntesis de clorofilas.

El objeto de este trabajo fue el establecimiento de un posible control de la luz, a través del fitocromo, sobre la síntesis de clorofilas en cotiledones de dos variedades comerciales de *Citrullus vulgaris*, durante enverdecimiento. También se señala como posible nuevo carácter taxonómico a nivel de variedades, el diferente comportamiento frente al fitocromo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Semillas de *Citrullus vulgaris* var. com. *reina* y var. com. *valenciana*, previa esterilización en superficie y escarificadas sus cubiertas externas, se cultivaron en medio HOAGLAND (HELLER, R., 1969), en obscuridad, a 26° C, durante cuatro días, a partir de los cuales se sometieron a dos tratamientos diferentes:

- 1) Aplicación de ciclos de 24 horas, en los que la duración del fotoperiodo varía de 8 a 15 horas.
- 2) Sometiendo a la plántula a fotoperíodos de 14 horas, interrumpir en su mitad, el fotoperíodo en unos casos o el nictoperíodo en otros, con obscuridad o luces blancas, roja e infrarroja.

El contenido en clorofilas se evalúa midiendo las densidades ópticas, a 649 nm. y 665 nm. (STRAIN, H. I., COPE, B. T. & SVEC, W. A., 1971) de un extracto acetónico obtenido a partir de cotiledones por el siguiente tratamiento: semillas pesadas y desprovistas de su tegumento externo se trituran, disolviendo el homogeneizado en 20 ml. de ClNa al 2 % por gramo de semilla. La disolución se centrifuga a $100 \times g$. durante 1 minuto. El sobrenadante así obtenido se centrifuga a $3.600 \times g$. durante 7 minutos, precipitando los cloroplastos que se tratan, en obscuridad, con 5 ml. de acetona al 80 %.

La iluminación con luz blanca se realizó con tubos fluorescentes Osram FL, de 40 W colocados a una distancia de las plántulas de tal manera que la energía radiante a su nivel era de $12.000 \text{ ergios cm}^{-2} \text{ sg}^{-1}$. La iluminación roja se llevó a cabo con tubos fluorescentes, marca Sylvania F 20 T12/R, de 20 W, emitiendo en la zona de 600 a 680 nm. La iluminación infrarroja se realizó con lámparas Philips, modelo HP, 3.608, de 50 W, que emitían en la región 700-750 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las tablas I y II se expresan los niveles de clorofilas *a* y *b* encontrados, a lo largo de los once primeros días de iluminación y con diferentes fotoperíodos, en cotiledones de plántulas de *Citrullus vulgaris* var. com. *valenciana* y var. com. *reina* respectivamente.

Para ambas variedades, la síntesis de clorofilas presenta respuestas bimaximales, siendo el fotoperíodo inductivo óptimo el de 14 horas. Respecto a la localización de los máximos y la proporción clorofilas *a/b* se observa un comportamiento diferente. Así, mientras que en la var. com. *valenciana* los máximos se encuentran en el 3.º y 8.º día de iluminación y la proporción clorofilas *a/b* es menor de uno, en la var. com. *reina* el primer máximo se produce al 5.º día de iluminación y el segundo presenta cierta variabilidad, localizándose entre el 8.º y 10º día de iluminación. La cantidad de clorofila *a*, frente a clorofila *b* es siempre, en esta variedad, mayor a la unidad.

Vemos pues que existe un comportamiento fotoperiódico diferente para cada variedad. Las respuestas de una planta, durante el proceso de enverdecimiento, surgen como consecuencia de una multiplicidad de factores transmisibles, formados en una hoja durante la inducción fotoperiódica. Considerando que el comportamiento fotoperiódico está me-

TABLA I

Niveles de clorofilas a y b encontrados en cotiledones de plántulas de *C. vulgaris* var. *com. valensioma* ($\mu\text{g/g}$. peso fresco)

Foto- periodo	Días de iluminación																					
	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
8	5,0	6,0	16,7	18,5	17,2	20,8	8,3	16,0	5,7	3,3	4,8	2,9	6,5	7,4	18,9	18,8	18,6	18,6	11,2	14,0	8,1	12,0
9	4,5	5,0	12,0	13,2	16,0	17,6	15,3	15,4	13,2	13,8	12,0	12,7	16,0	18,5	16,2	18,6	15,3	17,6	13,7	11,4	12,4	7,8
10	1,2	3,1	9,1	6,8	10,0	8,0	6,9	9,3	5,0	5,0	4,3	5,0	9,3	9,8	12,5	13,9	8,8	8,8	6,8	7,5	4,3	3,9
11	3,1	4,0	5,0	4,2	12,3	6,0	12,0	4,6	4,6	8,8	4,6	4,6	10,3	19,0	14,9	20,7	14,0	19,2	12,2	17,8	2,0	14,0
12	5,8	17,8	17,7	26,0	19,0	29,3	16,1	18,8	14,0	19,0	11,2	14,0	7,2	25,1	17,6	28,0	10,1	18,2	9,3	18,3	1,6	12,9
13	6,3	26,5	13,0	21,6	31,2	36,3	16,8	26,0	11,0	9,2	10,4	8,8	1,2	25,0	25,0	89,8	8,2	9,8	13,8	4,3	1,8	3,0
14	12,1	11,6	13,5	29,4	36,4	107,3	29,2	41,2	6,3	11,0	5,2	9,6	13,3	26,1	97,1	110,4	15,9	21,2	8,8	16,0	6,3	7,8
15	3,3	6,9	14,0	8,0	50,3	42,1	12,6	18,5	6,8	6,8	4,9	3,9	3,2	3,4	23,0	22,8	12,2	12,5	10,5	8,4	1,1	1,4

TABLA II

Niveles de clorofilas a y b encontrados en cotiledones de plántulas de *C. vulgaris* var. *com. reina* ($\mu\text{g/g}$. peso fresco)

Foto- periodo	Días de iluminación																					
	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
8	2,97	1,08	11,36	3,72	26,44	9,88	39,96	14,08	21,25	45,92	15,68	50,15	15,87	48,64	17,00	65,45	22,58	60,40	24,14	52,23	16,70	16,70
9	1,74	0,37	7,66	3,66	20,63	6,71	25,17	12,48	22,36	44,78	14,81	57,57	19,31	56,57	11,82	59,35	19,85	124,24	46,44	107,5	40,02	40,02
10	2,41	1,95	11,42	3,21	15,53	6,62	32,51	11,76	28,09	48,52	15,67	49,43	16,73	60,47	19,51	88,94	29,25	86,57	30,73	79,5	29,25	29,25
11	4,79	1,74	27,53	9,76	23,88	11,74	41,06	13,75	22,84	52,96	18,88	57,79	20,55	74,06	25,81	81,43	27,75	92,40	33,88	88,5	32,75	32,75
12	3,08	3,63	6,63	2,12	19,19	7,48	47,17	17,08	28,39	70,77	28,23	55,85	21,37	100,12	36,21	81,53	28,27	88,47	30,73	84,5	26,3	26,3
13	2,22	0,59	10,23	4,96	43,57	36,28	26,32	13,87	29,46	52,49	18,59	98,43	34,81	103,15	36,77	93,39	30,41	38,36	13,98	74,50	26,10	26,10
14	1,05	0,60	6,25	2,90	36,28	32,42	17,52	6,7	32,09	68,19	25,49	87,37	32,97	121,13	45,33	142,56	46,84	88,84	29,19	96,35	34,42	34,42
15	3,14	2,12	22,56	7,53	34,73	9,99	66,16	22,53	35,51	67,39	24,53	94,80	33,75	109,00	37,82	139,47	46,39	116,58	42,47	79,08	28,61	28,61

TABLA III

Efecto de interrupciones sobre la síntesis de clorofilas en cotiledones de *Citrullus vulgaris* var. com. rana

Tratamiento	Clorofilas a y b (µg/g peso fresco)			
	Fotoperíodo		Nictoperíodo	
	cl. a	cl. b	cl. a	cl. b
Control.....	35,50 ± 1,2	32,62 ± 3,0	35,50 ± 1,2	32,62 ± 3,0
5 min. obs. o 5 min. LB *..	33,81 ± 4,0	15,29 ± 1,1	24,69 ± 3,5	11,79 ± 1,3
5 min. R.....	41,00 ± 4,0	16,62 ± 1,1	38,22 ± 2,0	15,48 ± 2,0
5 min. R + 5 min. IR	37,42 ± 3,1	14,84 ± 1,3	17,68 ± 2,0	9,49 ± 1,9

* Se sobreentiende que los 5 min. obs. corresponden a interrupción del fotoperíodo y los 5 min. LB a interrupción del nictoperíodo.

TABLA IV

Efecto de interrupciones sobre la síntesis de clorofilas en cotiledones de *Citrullus vulgaris* var. com. valenciana

Tratamiento	Clorofilas a y b (µg/g peso fresco)			
	Fotoperíodo		Nictoperíodo	
	cl. a	cl. b	cl. a	cl. b
Control.....	95,43	107,33	95,43	107,33
5 min. obs. o 5 min. LB *..	2,75	5,38	6,58	13,62
5 min. R.....	2,38	1,11	2,38	4,92
5 min. R + 5 min. IR	90,28	112,32	92,36	104,13

* Se sobreentiende que los 5 min. obs. corresponden a interrupción del fotoperíodo y los 5 min. LB a interrupción del nictoperíodo.

diado por fitocromo, parece probable que exista una diferente regulación de la síntesis de clorofilas por fitocromo. Para confirmar esta hipótesis se midieron los niveles de clorofilas *a* y *b* en cotiledones de plántulas de *Citrullus vulgaris* var. com. *reina* sometidas, después de 4 días de vida de obscuridad, a fotoperíodos de 14 horas, interrumpiendo en su mitad el fotoperíodo o el nictoperíodo con diferentes tratamientos (tabla III). Se observa que una corta interrupción, tanto del fotoperíodo como del nictoperíodo, con 5 minutos de luz roja (aproximadamente 660 nm.) provoca un aumento en la síntesis de clorofilas *a* y *b*, respecto del control. Ahora bien, cuando el efecto de la luz roja (aumento de fitocromo bajo forma infrarroja) se vé anulado por una corta irradiación con luz infrarroja (aproximadamente 730-780 nm.), los niveles de clorofilas se aproximan al encontrado en el control. De estos resultados se deduce que la síntesis de clorofilas en cotiledones de plántulas de *Citrullus vulgaris* var. com. *reina* está inducida por fitocromo. En la tabla IV se exponen los resultados obtenidos al aplicar los mismos tratamientos de interrupciones sobre plantas de *Citrullus vulgaris* var. com. *valenciana*. Se puede observar que una interrupción roja seguida de infrarroja (bajada en el nivel de Pfr) provoca un aumento de la síntesis de clorofilas en cotiledones, por lo cual, en esta variedad, el fitocromo bajo la forma infrarroja (Pfr) actuaría como represor de la síntesis de clorofilas.

BIBLIOGRAFÍA

- Heller, R. — 1969 — *Biologie Végétale* 2, 400, Masson et Cie., Paris.
Liro, J. I. — 1909 — *Ann. Acad. Sci. Fenn.*, Ser. A1, 1.
Price, L. & Klein, W. H. — 1961 — *Plant Physiol.*, 36, 733.
Strain, H. H., Cope, B. T. & Svec, W. A. — 1971 — *Methods in enzymology*, 23, 452, Colowich and Kaplan, Academic Press Inc., New York.
Virgin, H. I. — 1961 — *Physiol. Plant.*, 14, 439.
Withrow, R. B., Wolff, J. & Price, L. — 1965 — *Plant Physiol.*, 31, XIII.

Cátedra de Fisiología Vegetal
Facultad de Biología
Universidad Complutense
Madrid

Departamento de Fisiología Vegetal
Facultad de Ciencias
Universidad de Salamanca