

DESCOMPOSICION FOTOQUIMICA DE LA CLOROFILA EN CASOS DE DEFICIENCIA DE HIERRO

Por M.^ª DEL CARMEN DIEZ ALTARES
Estación Experimental de Aula Dei, Zaragoza

I.—INTRODUCCION

Es un hecho generalmente observado que la luz natural intensa acentúa los síntomas de clorosis, en las plantas afectadas por diversas deficiencias. Sin embargo, son escasos los trabajos que relacionan la deficiencia inducida de hierro con el factor luz.

GERICKE (1925) observa que plantas de trigo cultivadas en soluciones deficientes en hierro, muestran excelente crecimiento y color verde normal en la sombra, y pequeño crecimiento y clorosis en pleno sol. STECKEL (1947), trabajando con soja, ha encontrado que los síntomas de deficiencia de hierro aparecen antes en largos fotoperíodos y altas intensidades de luz que en cortos fotoperíodos e intensidades de luz bajas. Según WALLACE (1951), los síntomas de deficiencia de hierro pueden ser menos severos en condiciones de baja intensidad de luz y la movilidad del hierro, en árboles frutales, parece estar afectada por una alta intensidad luminosa.

En el caso de la deficiencia inducida de hierro en frutales de la región del Ebro, ha sido mostrado el influjo de la luz en la acentuación de los síntomas (RODRIGUEZ y DIEZ-ALTARES, 1955).

Respecto al influjo de la luz sobre la pérdida de clorofila, KOSKI (1950) y VIRGIN (1956), entre otros, muestran que un exceso de luz destruye aquel pigmento en las plantas, y SAGROMSKY (1956) observa que, cuando se reduce la intensidad de la luz en un 48 %, se forman grandes cantidades de clorofila en plantas de tomate y *Acer negundo*, mientras que para intensidades crecientes de luz disminuye el contenido en clorofila. En *Acer negundo*, la clorofila *a* está más influenciada por la luz que la *b*; en el tomate queda constante la relación de ambos pigmentos. AACH (1954), trabajando con *Chlorella*, encuentra que las formas menos oxidadas de los pigmentos se descomponen por la luz más rápidamente que las más oxidadas; según el citado autor, clorofila *a* desaparece antes que clorofila *b*, y carotina antes que xantofila. STRAIN (1949), por el contrario, afirma que la clorofila *b* es más susceptible a la fotooxidación que la clorofila *a*. EGGLE (1937), SEYBOLD y EGGLE (1937 y 1938), y HARDER *et al* (1938), encuentran que las hojas de plantas de umbría contienen no solamente más clorofila total, sino también relativamente más clorofila *b*, que las hojas de

plantas de solana. Y EGGLE (1944) observa que la pérdida de la clorofila *a* en la oscuridad es mayor que la de la *b* y, con iluminación subsiguiente, el nivel normal de clorofila *a* se alcanza más rápidamente que el de clorofila *b*. MYERS (1940), en algas verdes, muestra que la relación clorofila *a/b* es del mismo orden de magnitud en luz y oscuridad y la clorofila formada en ambos casos es igualmente efectiva en fotosíntesis. ARONOFF y MACKINNEY (1943) han estudiado las razones de fotooxidación de clorofilas *a* y *b* en benceno y encuentran que la reacción es de segundo orden y aproximadamente igual en ambas. SMITH y KOSKI (1947-48), en plantas cultivadas en oscuridad, encuentran un valor normal de la relación clorofila *a*/clorofila *b* y que la iluminación no tiene efecto sobre ambos pigmentos.

RAGGIO y RAGGIO (1953), comprueban, en cáscara de mandarina en el período de formación, el comportamiento diferente de las clorofilas *a* y *b*, bajo el influjo de la luz.

WILLSTATTER y STOLL (1918), no encuentran cambio en la relación clorofila *a*/clorofila *b* en las hojas de otoño; por el contrario, los trabajos de RUDOLPH (1934), NAGEL (1940), SEYBOLD (1943) y WOLF (1956) muestran que se verifica una más rápida desaparición de clorofila *a* que de *b*, cuando desaparece el pigmento de las hojas en la senectud.

Por otra parte, la clorofila «in vitro» se descompone por la luz en presencia de oxígeno, aunque es bastante estable en ausencia del mismo o de disolventes que no contienen peróxidos. SCHENK y ZIEGLER (1945), han mostrado que la clorofila actúa como fotosensibilizador a causa de su acción como agente fotooxidante. Según KRASNOVSKII (1948), la clorofila disuelta en piridina, es fotorreducida reversiblemente en presencia de ácido ascórbico, en condiciones anaerobias; en solución alcohólica, muestra una marcada tendencia a la fotooxidación reversible. Y ARONOFF y MACKINNEY (1943) afirman que mientras algunas sustancias como el ácido ascórbico son fotooxidadas por la clorofila en presencia de oxígeno, otras son protegidas por ella por absorción del ultravioleta próximo.

El sistema clorofílico no es el único directamente afectado por la luz. Diversos autores han encontrado que la iluminación con su intensidad, fotoperíodo y calidad de la luz utilizada ejercen gran influencia sobre el contenido de ácido ascórbico en las plantas (MACINTOSH, 1938; HIVON, DOTY y QUACKENBUSH, 1951; GYORGY, 1942; BROWN, 1955, y ROBINSON, 1949).

Los resultados de MAPSON y CRUICKSHANK (1947) muestran que el contenido de ácido ascórbico de las hojas se reduce casi al 50 %, en 72 horas de oscuridad. REID (1938) encuentra en 7-11 días de permanencia en la oscuridad un contenido de ácido ascórbico 4-9 veces menor que en las plantas sometidas a la luz. ABERG (1949) manifiesta que la cantidad de ácido ascórbico contenida en las hojas disminuye al mismo tiempo que la intensidad luminosa, aunque hay una síntesis de ácido ascórbico independiente de la luz. LECAT (1951) sugiere

que la iluminación al favorecer el anabolismo del ácido ascórbico, favorece también su acumulación en las hojas. SMITH y GILLIES (1940) y TOMBESI (1951), han hallado cierta fluctuación diurna en el contenido de ácido ascórbico en las plantas, teniendo su máximo por la mañana. Según MOLDTMANN (1939), el contenido en ácido ascórbico depende de la intensidad de la luz y del contenido en clorofila, aumentando al aumentar la fotosíntesis.

Por otra parte, se ha estudiado la posible protección que puede ofrecer el ácido ascórbico frente a las radiaciones en las plantas (COOKE 1953).

Numerosos autores han hallado correlaciones entre el contenido de ácido ascórbico de las hojas y la cantidad de clorofila en distintos niveles y condiciones. GIROUD *et al.* (1934) y MOLDTMANN (1939) han llegado a la consecuencia de que el ácido ascórbico, en su forma reducida es mucho más abundante en las hojas verdes que en las que carecen de clorofila. SIDERIS y YOUNG (1944), afirman que el ácido ascórbico en las hojas y jugos está casi limitado a las regiones clorofílicas aunque las cantidades presentes no son directamente proporcionales a las de clorofila. Y en un estudio posterior (1947), encuentran que la relación ascórbico/clorofila es más alta en las zonas cloróticas que en las no cloróticas. RACKSHIT (1938) supone que se verifica una asociación entre ácido ascórbico y clorofila y observa que el ácido ascórbico es protegido de la autooxidación por la clorofila coloidal. Y KOLESNIKOV (1950) afirma que la destrucción de la clorofila en hojas de cebada es acelerada por la adición de nitratos o nitritos a las mismas, pero la adición de ácido ascórbico reduce los nitritos a hidroxilamina y protege a la clorofila de la destrucción. Según BUKATSCH (1939) el sistema red-ox, ácido ascórbico-dehidroascórbico, actúa en fotosíntesis reduciendo y oxidando a la clorofila respectivamente.

HAMDALLAH (1939) afirma que el ácido ascórbico no parece estar afectado por la deficiencia de hierro en plantas de judías y maíz. KARIKKA *et al.* (1944) y LYONS y FELLERS (1939) afirman que el contenido de ácido ascórbico en las patatas no está influido por adición de microelemento al suelo. LYONS *et al.* (1943), por el contrario, han encontrado un pequeño pero significativo aumento de ácido ascórbico en el fruto de tomates deficientes en hierro. RANDOIN y LE GALLIC (1942) han hallado que en algunos vegetales verdes, los contenidos de ácido ascórbico muestran una correlación similar con hierro y proteína. Y SIDERIS y YOUNG (1944) encuentran una reducción del contenido de ácido ascórbico en las hojas basipetas de plantas cultivadas en soluciones con más hierro que en las de menos hierro.

Con mucha extensión se ha estudiado, además los diversos problemas relacionados con la clorofila y deficiencia de hierro en las plantas, sin que se hayan llegado a resolver muchos de ellos de manera definitiva.

WALLACE (1928), OSERKOWSKY (1932), BENNET (1945) y JACOBSON (1945), han hallado una relación entre clorofila y hierro total, mientras que WALLACE y MANN (1926), OSERKOWSKY (1933) y ABADÍA (1956), encuentran que la relación existe entre clorofila y el hierro soluble, inorgánico o libre, denominado hierro «activo» por OSERKOWSKY.

Por otra parte, luz y clorofila también están estrechamente relacionados con algunos sistemas enzimáticos del tipo de la catalasa. Según LAVOREL (1954), la actividad catalásica de las suspensiones de cloroplastos expuestas a la luz disminuye en relación con la actividad en la oscuridad y la actividad catalásica en la oscuridad es proporcional a la concentración de los cloroplastos. Y en un trabajo posterior, (1956) llega a la conclusión de que la fotoinhibición de la catalasa está en relación con el poder reductor de los cloroplastos iluminados. EYSTER (1950) afirma que la actividad catalásica en plantas de maíz aumenta en la oscuridad. Según este mismo autor, la actividad catalásica en tres variedades de maíz —albina, amarilla y verde— aumenta en ese orden. VON EULER (1931), NAKAMURI (1941) y YAMAFUJI (1943) han demostrado que plantas desprovistas total o parcialmente de clorofila presentan menor actividad catalásica que las normales. DROUINEAU y GOUNY (1946), BROWN y HENDRICKS (1952), BROWN y STEINBERG (1953), BROWN (1953) y ABADÍA (1956) llegaron a la conclusión de que las hojas de plantas cloróticas por deficiencia de hierro, poseen una actividad catalásica menor que las hojas de plantas verdes. Según APPLEMAN (1952) la actividad catalásica es más alta en plantas etioladas que en plantas verdes, aunque en plantas normales la actividad catalásica y clorofila varían paralelamente. En fin, RAGGIO y RAGGIO (1953) llegan a la conclusión de que no existe relación directa entre la actividad catalásica y la clorofila.

Los datos bibliográficos expuestos indican que no está resuelto de manera definitiva *el sistema de factores relacionados con la labilidad de la clorofila para la luz, en plantas deficientes en hierro.*

En la aclaración de este hecho hemos considerado que podían jugar un papel importante la catalasa y el denominado hierro activo, así como algunos sistemas reductores, como los polifenoles y el ácido ascórbico y hemos tratado de hallar relaciones entre dichos sistemas y el fenómeno de descomposición de la clorofila.

En primer lugar, se han realizado unas experiencias de fotoperiodicidad, con objeto de observar el grado de descomposición de la clorofila con el tiempo de exposición a la luz. Hemos procedido también a determinar la relación clorofila *b*/clorofila *a*, que pudiera explicar la señalada labilidad de la clorofila formada en luz débil y, por último, hemos investigado las relaciones de clorofila y luz con los sistemas antes señalados: ácido ascórbico, hierro activo y actividad catalásica.

Consideramos además, que la protección de la clorofila contra las radiaciones pudiera efectuarse por intermedio de los polifenoles, cuya química y fotoquímica no han sido bien investigadas. En un trabajo anterior (RODRÍGUEZ y DíEZ-ALTARES, 1955) hemos mostrado que disminuye el contenido de polifenoles en las hojas cloróticas, por deficiencia inducida de hierro y, cuando se provoca la formación de clorofila por inyección con sulfato ferroso, se verifica también una recuperación en el contenido de polifenoles.

Nuestras experiencias se han realizado en pleno campo y con cultivos naturales. Dada la influencia que ejercen los factores ecológicos sobre las plantas, hemos tenido que vencer ciertas dificultades porque algunas variables no han podido ser fijadas.

La intensidad de la luz solar, dato interesante en nuestras experiencias, no ha podido ser registrada; para tener una referencia de su valor relativo, hemos medido la intensidad de la luz reflejada por una superficie blanca, con un fotómetro Weston Master. La Oficina Meteorológica de la Estación Experimental de Aula Dei ha puesto a nuestra disposición las temperaturas máxima y mínima, presión atmosférica media y número de horas de insolación.

II.—MATERIAL

Hemos realizado las experiencias sobre dos clases de material: peral, planta perenne, y cacahuete, planta anual, previo diagnóstico visual (WALLACE 1944; AMBRIDGE, 1941, y KITCHEN, 1949) y biológico (ROACH, 1939) de la deficiencia de hierro; de este modo, evitamos encontrarnos en un caso particular y los resultados pueden generalizarse, pese a las variaciones naturales ambientales en que han transcurrido las experiencias.

Las variedades de peral utilizadas, que se expresan acompañando a la correspondiente experiencia, forman parte de un vivero a cuyo suelo corresponden las características que se muestran en el cuadro siguiente:

Cuadro I

Parcela	pH	Materia org. %	Carbonatos tot. %	Poder cloro- sante ‰
LOS PINOS	7'81	2'36	30'12	108'2

Cada variedad forma un clon de 6 árboles, injertados en agosto de 1950, sobre membrillero de fuente comercial española. La distancia entre los clones es de un metro, separados 0'30 m. entre sí los árboles de cada clon.

Las variedades de cacahuete empleadas son: *Virginia jumbo*, rastrojera y resistente a la deficiencia de hierro, y *Local* (Zaragoza), er-

guida y clorótica. Se sembraron en años consecutivos en parcelas cuyas características se detallan en el capítulo de observaciones, al describir la respectiva experiencia.

Las experiencias de variación de la intensidad luminosa se han practicado cubriendo las hojas con bolsas negras de algodón, que reducen la intensidad de la luz natural en un 98 %. aproximadamente.

III.—METODOS

TOMA DE MUESTRAS.

Todas las determinaciones se han efectuado sobre las hojas, órganos de la planta que manifiestan los síntomas de clorosis y responden mejor a las variaciones de intensidad de luz.

En los perales se tomaron en el mismo ejemplar las hojas (muestra) de tres ramas, análogas visualmente en cuanto a su grado de clorosis, situadas aproximadamente al mismo nivel. una de las cuales fué cubierta con una bolsa, otra tratada con inyección de Fe SO_4 (0'025 %), quedando la tercera como testigo.

Las hojas que llamamos verdes, corresponden a ejemplares que dentro del mismo clon, se presentan más verdes que las de los árboles restantes.

Para las distintas experiencias, ha sido preciso utilizar simultáneamente dos o más variedades de peral, para poder reunir todo el material requerido. Sin embargo, en todos los casos, y en cada ejemplar, a cada rama cubierta correspondía una tratada y otra testigo, como acabamos de describir.

Para las determinaciones, se tomaron a partir del ápice la segunda y tercera hoja desplegada de cada yema, hasta componer un total de unos 100 gr. en fresco. Todas las muestras fueron recogidas a la misma hora del día, con objeto de evitar las variaciones que en el contenido de las materias objeto de estudio pudiera ocasionar un cambio en este sentido.

En el caso de los cacahuets, se eligieron al azar diferentes plantas de la variedad Local (cloróticas), que fueron cubiertas con las bolsas ya mencionadas. También al azar se eligieron diversas líneas que fueron tratadas con solución de Fe SO_4 , como se indica oportunamente. La toma de muestras se efectuó siguiendo el mismo criterio que en el caso de los perales.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Las hojas se limpian con un algodón empapado en agua destilada y se separan los limbos de los peciolos, utilizando solamente aquéllos para las determinaciones. Se desecan en estufa eléctrica durante 48 horas, a 75° C y se trituran después en mortero de porcelana, hasta reducir las a polvo fino: este material se almacena para las determinaciones referidas a materia seca.

Para las determinaciones de clorofila y ácido ascórbico, referidas a peso fresco, se limpian las hojas con algodón seco y se dividen las láminas en pequeños trozos, mezclándolos para homogeneizar la muestra.

APORTE DE HIERRO Y ÁCIDO ASCÓRBICO.

Para el aporte de hierro se han seguido, en el caso de los perales, las técnicas de ROACH (1939), de inyección peciolar y mediante incisión, utilizando una solución de Fe SO_4 (0'025 %), acidulada con H_2SO_4 (0'025 % en volumen); también se ha empleado la técnica de inyección sólida indicada por ROACH y ROBERTS (1945) y THOMPSON (1943), con tabletas de Fe SO_4 de un gramo.

En el caso de los cacahuets se ha utilizado la técnica del rociado por aspersion, empleando una solución de Fe SO_4 al 0'15 %, a la que se ha añadido 0'05 % de un detergente (Shell-Stool) que actúa como humectante.

Para el aporte de ácido ascórbico se ha seguido, en todos los casos, la técnica de inyección mediante incisión (ROACH, 1939), haciendo uso de una solución de ácido ascórbico al 0'80 % recién preparada.

MÉTODOS DE ANÁLISIS.

Clorofila. — La extracción de la clorofila se ha efectuado siguiendo las indicaciones de BEHRENS (1952) y SCHENK (1952), con ligeras modificaciones: Fijación de la clorofila por inmersión de las hojas frescas en agua hirviendo durante un minuto, secándolas luego entre papel de filtro. Un gramo de este material, con 0'5 gr. de arena lavada y unas gotas de alcohol etílico de 96°, se tritura en un mortero, lavando después con 10 cc. del mismo alcohol; se filtra con filtro de placa y se repiten los lavados con alcohol hasta que el líquido pasa incoloro. El filtrado se recoge en matraz de 100 cc. y se enrasa.

El contenido en clorofila se determina inmediatamente después de la extracción, midiendo la intensidad del color verde en un absorciómetro Spekker, tipo H 760, con cubeta de 4 cc. y filtro rojo (Ilford 608).

Para representar las curvas patrón de clorofila se asigna el valor 100 % a una solución extraída de hojas verdes pertenecientes a la variedad Madame Ballet, de peral, y Virginia jumbo, de cacahuets, ambas fuertemente resistentes a la clorosis; por diluciones sucesivas con alcohol etílico de 96° se obtienen las soluciones cuyas medidas absorciométricas proporcionan los restantes puntos de las curvas. Las lecturas de las soluciones problema se interpolan en las correspondientes curvas patrones así obtenidas, para obtener el % de clorofila; dichos valores, por consiguiente, no son absolutos.

En otra serie de determinaciones de clorofila total y clorofilas a y b, se ha seguido la técnica espectrofotométrica estipulada por la

A. O. A. C. (1950), utilizando un espectrofotómetro Beckman, modelo DU.

Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado y referidas a materia fresca.

Acido ascórbico. — Para la determinación de ácido ascórbico se ha seguido el método fotocolorimétrico de MORELL (1941), utilizando como oxidante 2-6 diclorofenolindofenol, absorciómetro Spekker H 760, cubeta de 4 cc. y filtro verde (Ilford 604).

Las determinaciones por cuadruplicado, referidas a materia fresca.

Hierro soluble. — La extracción de hierro soluble se efectúa con HCl 1N (OSERKOWSKI, 1933). Como el extracto obtenido por maceración con HCl está fuertemente coloreado, después de añadirle unas gotas de ácido nítrico concentrado, se evapora casi a sequedad, procediéndose después a la preparación de la solución por digestión ácida, según PIPER (1950).

La determinación se ha efectuado con $\alpha\alpha'$ — dipiridilo, siguiendo el método propuesto por MASON (1950) y utilizando absorciómetro Spekker H 760.

Las determinaciones por duplicado, referidas a materia seca.

Actividad catalásica. — Para la determinación de la actividad catalásica se ha seguido el método de DROUINEAU y GOUNY (1952), estandarizado por ABADÍA (1956), para las condiciones en que hemos operado. Las experiencias se han llevado a cabo por duplicado y los resultados se exponen en centímetros cúbicos de oxígeno desprendido, referido a condiciones normales y materia fresca.

Polifenoles. — En cuanto a los sistemas de polifenoles se ha efectuado la reacción de LINDNER *et al.* (1950), que atestigua la presencia de polifenoles, después de la separación de la clorofila; no se han llevado a cabo determinaciones cuantitativas.

Taninos. — La extracción de taninos se ha efectuado según las indicaciones de MICHEL-DURAND (1928-29), por tres abatimientos sucesivos de un gramo de material, con 60 cc. de agua destilada, a 100° C, en atmósfera saturada de vapor.

Para la dosificación se ha seguido el método de CARPENI-SISLEY (1928-29), modificado, expresando los resultados en centímetros cúbicos de MnO_4K , porque no se conoce el equivalente ponderal.

Luz. — Se ha medido con un fotómetro Weston Master, modelo S 74/715, la intensidad de la luz reflejada por un papel blanco de filtro, situado en el suelo a 30 cm. del aparato.

Las medidas se han efectuado diariamente, a la hora en que el sol está en su cenit, fuera y dentro de un bastidor de la misma naturaleza que las bolsas empleadas para disminuir la intensidad de la luz.

Los resultados se expresan en bujías por pie cuadrado (f. c.).

IV.—OBSERVACIONES Y RESULTADOS

VARIACIÓN DEL CONTENIDO EN CLOROFILA CON DIFERENTES PERÍODOS DE ILUMINACIÓN.

En el marco general del efecto de las radiaciones luminosas tiene interés considerar la influencia que ejerce la disminución de la intensidad luminosa, en diferentes períodos, sobre el contenido de clorofila en plantas deficientes en hierro, así como sobre el curso de la reacción del diagnóstico biológico (inyección por incisión con Fe SO_4 al 0'025 %).

A fin de comprobar aquella influencia hemos efectuado una experiencia visual utilizando tres variedades de peral: Passe Colmar, Amadeo Thirriot y Sucrée de Montluçon, que presentan un grado visual de clorosis similar. Para disminuir la intensidad de la luz en un 98 %, hemos empleado bolsas de tela negra (pág. 6) de tamaño adecuado. La edad de los árboles es de 2 años, y se tratan 6 árboles de cada variedad.

Se ha elegido la tercera hoja formada de cada yema de ramas análogas, elegidas al azar, en todos los árboles y se hacen 9 grupos, cada uno de los cuales consta de: 4 hojas inyectadas y cubiertas, 4 inyectadas sin cubrir y 4 sin inyección y cubiertas, dejando igual número de hojas como testigo. Los grupos se mantienen en luz débil 24, 23, 22, ... 16 horas diarias, permaneciendo las restantes horas del día en luz plena.

Para la exposición a la luz, a las nueve de la mañana se descubren todas las hojas menos las del primer grupo, y cada hora se van cubriendo los grupos correspondientes, teniendo en cuenta que, puesto que las experiencias se verifican en el campo, la intensidad de la luz va variando. Cada experiencia se ha prolongado durante 16 días, y hay que considerar que las hojas testigo no permanecen en luz continua, ya que se hallan sometidas a las variaciones de noche y día. No hemos efectuado medidas de intensidad de luz.

Los resultados experimentales se indican en los cuadros II, III, IV y V.

Los datos de los cuadros II y IV indican que cuando las hojas cloróticas sin inyectar se mantienen continuamente en luz difusa o se alternan con períodos de una o dos horas diarias de iluminación plena, tiene lugar un aumento del contenido en clorofila que se traduce en un enverdecimiento (señalado +). a las 24 horas de iniciada la experiencia. Si se iluminan durante 3, 4 ó 5 horas diarias, se requieren de 4 a 5 días para que se observe la formación de clorofila, y a partir de 5 horas diarias de iluminación natural, no se observa formación del pigmento durante el transcurso de los 16 días que ha durado la experiencia.

En los cuadros III y V, que indican la influencia de diferentes períodos de luz natural y débil sobre el curso de la reacción del

CUADRO II.—Influencia del descenso de iluminación sobre hojas cloróticas

Horas de luz intensa	Días transcurridos desde el sombreado															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Testigo	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Horas de insolación en los días correspondientes	7	5	5	7	8	6	11	9	12	8	6	7	9	7	9	10

+ Enverdecimiento perceptible.

— No enverdecimiento.

CUADRO III.—Influencia del descenso de iluminación sobre el diagnóstico biológico

Horas de luz intensa	Días transcurridos desde el tratamiento															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
1	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
2	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
3	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
4	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
5	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
6	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
7	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
8	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
Testigo	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R	— R
Horas de insolación en los días correspondientes	7	5	5	7	8	6	11	9	12	8	6	7	9	7	9	10

+ R, Respuesta positiva.
 — R, Respuesta negativa.

CUADRO IV.—Influencia del descenso de iluminación sobre hojas cloróticas

Horas de luz intensa	Días transcurridos desde el sombreado															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Testigo	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Horas de insolación en los días correspondientes	7	10	10	10	8	10	13	12	11	5	14	10	13	10	10	12

+ Enverdecimiento perceptible.

— No enverdecimiento.

CUADRO V.—Influencia del descenso de iluminación sobre el diagnóstico biológico

Horas de luz intensa	Días transcurridos desde el tratamiento															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R
1	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R
2	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
3	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
4	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
5	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
6	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
7	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
8	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
Testigo	-R	-R	-R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R	+R
Horas de insolación en los días correspondientes	7	10	10	10	8	10	13	12	11	5	14	10	13	10	10	12

+ R, Respuesta positiva.

- R, Respuesta negativa.

Fe SO₄, el signo —R significa que no percibimos el efecto visual de la inyección, que puede ser motivado por la superposición del enverdecimiento debido al sombreado.

Los resultados obtenidos demuestran que la luz tiene un efecto activador sobre la reacción del Fe SO₄, verificándose ésta con más rapidez al aumentar la intensidad luminosa y el número de horas de insolación diarias (señalado +R): las hojas testigo tardan 5 días en dar la respuesta visual en el mes de abril (cuadro III), con un total de 32 horas de insolación, mientras que las hojas inyectadas y cubiertas correspondientes a los cinco primeros grupos, es decir, en tanto que las horas de iluminación natural diaria son 0, 1, 2, 3 y 4, no muestran el efecto visual de la inyección en el curso de los 16 días que ha durado la experiencia. En los grupos restantes, se observa la respuesta positiva al cabo de 7 días.

Cuando aumenta el número de horas diarias de insolación (cuadro V), se obtiene la reacción positiva en 4 días, con un total de 37 horas de insolación, tanto en las hojas testigo como en las que reciben 5, 6, 7 y 8 horas diarias de luz plena. En días sucesivos, se llega a percibir el efecto de la reacción en todos los grupos, excepto el primero, correspondiente a 0 horas de exposición.

Así pues, en las condiciones en que se ha operado tiene lugar un aumento del contenido en clorofila por disminución de la intensidad luminosa, comprobándose *mayor velocidad de formación de clorofila por disminución de intensidad de luz que por aporte de hierro*.

La inestabilidad de la clorofila formada en luz débil se puede apreciar en esta experiencia, ya que la clorofila que se ha podido sintetizar en las horas de oscuridad se descompone en las siguientes 6, 7 y 8 horas diarias de exposición a la luz natural intensa.

De lo anteriormente expuesto se deduce que es necesario un mínimo de 4 días para la percepción visual del diagnóstico biológico de la deficiencia, por lo que las determinaciones cuantitativas las hemos realizado con esa frecuencia.

Se han cubierto ramas enteras de las variedades de peral Bergamota de Otoño y Duque de Pistola, y el aporte de hierro se ha efectuado por inyección peciolar. Solamente hemos operado con 5 periodos de exposición a la luz plena, correspondientes a 0, 1, 2, 3 y 4 horas, permaneciendo las restantes en luz débil.

De los 24 días que ha durado la experiencia, 16 han estado las hojas sometidas a las citadas alternativas de luz plena y débil, y el resto de los días (separados en los cuadros con doble línea), a luz plena, con objeto de observar las variaciones que experimenta la clorofila formada en luz débil cuando las hojas se someten a la luz natural intensa.

Los resultados obtenidos se expresan en los cuadros VI y VII y figura 1. Las gráficas de dicha figura están construídas con los va-

lores señalados en el cuadro VI y las cifras 0, 1, 2, 3 y 4, corresponden a horas de luz intensa.

De dichos resultados podemos deducir:

1.º) La disminución de la intensidad luminosa y el simultáneo aporte de hierro suman sus efectos, dando como resultado un aumento del contenido en clorofila, que rebasa al obtenido sólo por descenso de intensidad luminosa (gráficas fig. 1). Dicho contenido llega a ser tan elevado como el de las hojas verdes y aún a superarlo.

CUADRO VI.—*Tanto por ciento de clorofila en hojas de peral Bergamota de Otoño*

Horas de luz intensa	Hojas	Contenido inicial	Días desde el tratamiento					
			4	8	12	16	21	25
	Verdes	68'2	67'0	64'2	67'5	60'8	59'3	64'4
	Cloróticas	26'8	27'5	30'3	29'4	26'6	25'7	28'2
0	Tratadas		33'6	47'8	59'2	57'6	55'5	58'5
	Trat.-Cub.		39'5	43'6	78'0	66'8	62'4	65'0
1	Cubiertas		43'0	42'5	57'6	62'5	58'4	57'2
	Trat.-Cub.		39'9	45'3	64'0	63'8	60'0	61'3
2	Cubiertas		40'6	42'8	48'7	63'0	59'4	56'5
	Trat.-Cub.		38'5	45'7	67'6	59'8	54'7	54'5
3	Cubiertas		36'7	40'0	49'5	56'8	52'6	46'2
	Trat.-Cub.		37'5	36'0	46'5	61'7	60'4	57'9
4	Cubiertas		37'8	34'3	40'6	58'2	45'5	46'5
	Trat.-Cub.		29'0	41'5	49'3	59'1	57'0	56'2
	Cubiertas		30'6	36'8	40'5	55'0	53'5	47'5
N.º de horas de insolación			30	29	40	28	39	29

2.º) La clorofila aumenta más rápidamente por reducción de la intensidad luminosa que por aporte de hierro (comparación de las experiencias visuales (pág. 14). En un período de 4 días, las hojas que han permanecido en luz débil continua experimentan un aumento en el contenido de clorofila aproximadamente de 30 a 60 %, mientras que son aproximadamente de 7 a 25 % los aumentos correspondientes experimentados en el mismo período por las hojas que han recibido aporte de hierro, en inyección peciolar.

3.º) Exposiciones a la luz plena de 2, 3 y 4 horas diarias contra-restan la formación de clorofila, ya que se obtienen valores más bajos que para las hojas que permanecen continuamente en luz débil, siendo, en cambio, poco acusadas las diferencias para una sola hora diaria de exposición.

CUADRO VII.—*Tanto por ciento de clorofila en hojas de peral Duque de Pistola*

Horas de luz intensa	Hojas	Contenido inicial	Días desde el tratamiento					
			4	7	11	15	19	24
	Verdes	85'3	87'6	83'2	81'7	87'5	87'4	92'0
	Cloróticas	38'7	38'0	42'6	46'3	42'8	45'5	45'4
0	Tratadas		41'3	54'0	64'5	65'2	74'3	73'2
	Trat.-Cub.		52'5	76'1	81'3	79'5	75'5	71'8
1	Cubiertas		50'6	58'5	66'0	66'2	63'5	59'0
	Trat.-Cub.		51'5	65'6	68'0	80'0	74'2	72'3
2	Cubiertas		46'5	63'5	61'0	67'4	64'5	60'5
	Trat.-Cub.		50'5	65'6	66'8	74'2	74'5	73'6
3	Cubiertas		45'8	55'7	53'8	62'0	61'4	53'5
	Trat.-Cub.		45'5	65'6	72'5	68'0	64'5	64'8
4	Cubiertas		43'7	47'5	58'2	61'6	59'5	47'4
	Trat.-Cub.		43'8	63'6	68'7	71'5	65'3	63'5
	Cubiertas		45'5	49'8	63'5	61'6	51'5	44'0
N.º de horas de insolación			29	34	47	42	48	39

4.º) Si se someten a luz natural intensa las plantas en que se ha recuperado la clorofila por reducción de la intensidad luminosa, aquélla se destruye nuevamente, como puede apreciarse en las gráficas de las figuras 4, 5 y 6 (ramas descendentes). En períodos de 4-5 días, se obtiene una disminución del contenido en clorofila de 4 a 6 %, cuando las hojas que han permanecido 15-16 días en luz débil se exponen a luz plena (cuadros VI y VII).

5.º) La formación de clorofila por disminución de intensidad de luz es más rápida que la descomposición de la misma por la luz intensa, en las condiciones en que hemos operado. De los cuadros IX, X y XI se deduce que, en períodos de 4-5 días, para aumentos del

PERAL: BERGAMOTA DE OTOÑO

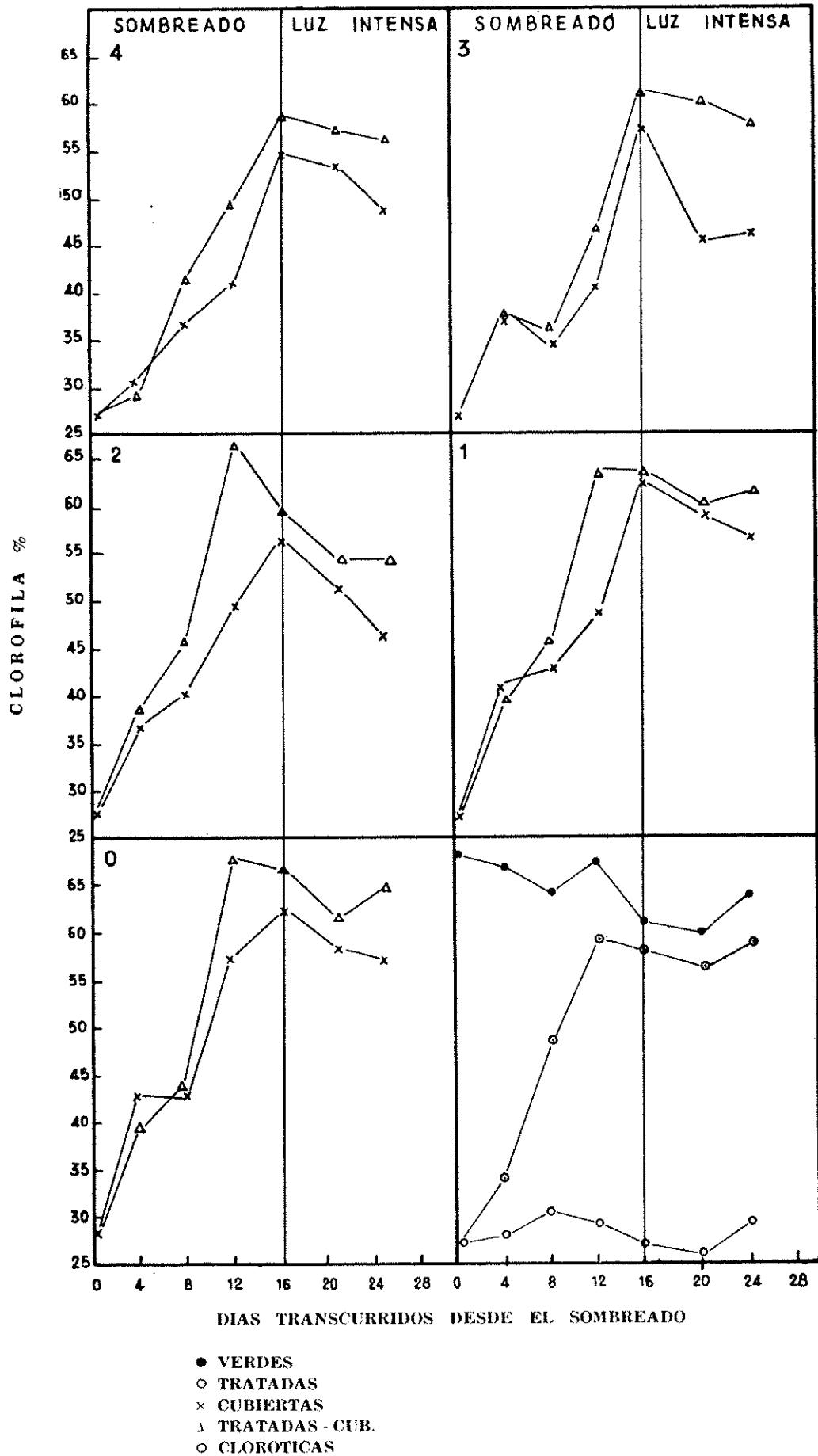


Fig. 1

contenido en clorofila por sombreado, comprendidos entre 22 y 100 %, corresponden descensos de 7'5 a 34 %, cuando actúa la luz natural sobre las hojas en que se ha formado clorofila previamente.

VARIACIÓN DEL COCIENTE CLOROFILA *b*/CLOROFILA *a* Y DE LA CLOROFILA TOTAL EN RELACIÓN CON LA INTENSIDAD DE LA LUZ.

Se han empleado dos variedades de peral: Calabaza Madame Bachelier y Mantecosa Mortillet, de 6 años de edad, y la variedad de cacahuets denominada Local (Zaragoza). Los cacahuets se han sembrado en una parcela de 36 m. de largo por 20 m. de ancho, a cuyo suelos corresponden las características indicadas en el cuadro VIII.

Cuadro VIII

Parcela	pH	Materia org. %	Carbonatos tot. %	Poder cloro- sante ‰
LISÍMETROS	9'00	1'40	32'76	78'8

La siembra se ha efectuado en líneas distantes entre sí un metro y la intensidad de la luz se ha reducido empleando las bolsas ya mencionadas (pág. 6) de 35 cm. de largo y 20 cm. de ancho, para sombrear ramas enteras durante todo el día.

La dosificación se ha realizado por el método espectrofotométrico de la A. O. A. C. (1950). En el caso de los perales, antes de triturar la muestra se estabiliza la clorofila (SCHENK, 1952). La densidad óptica de las soluciones se mide con un espectrofotómetro Beckman, modelo DU, tomándose las medidas de cada muestra a 6.425 Å y 6.600 Å, correspondientes a los máximos en las curvas de absorción de las clorofilas *a* y *b*.

Todas las determinaciones se han efectuado por duplicado, en períodos de 4-5 días; al cabo de 17 días, aproximadamente, las hojas sombreadas se dejan en plena luz, se vuelven a cubrir nuevas ramas y se continúan las determinaciones en los mismos intervalos, por espacio de otros 17 días. Cada experiencia ha durado en total 3 meses, aproximadamente. Los resultados se expresan en mg./g. de peso fresco.

Los valores del contenido en clorofila total y relación clorofila *b*/clorofila *a* en hojas verdes, cubiertas, descubiertas, después de 17 días de permanencia en sombra, y cloróticas, correspondientes a los perales, se indican en los cuadros IX y X, y en el cuadro XI los correspondientes a los cacahuets. Para dar una referencia de las condiciones ecológicas, indicamos en los cuadros la intensidad de luz reflejada máxima, media correspondiente a los 4-5 días y el número

CUADRO IX.—Peral: Mantecona Mortillet. Variación del cociente clorofila b/clorofila a y de la clorofila total con la intensidad de la luz (1)

Hojas	Valor inicial		t		b/a		t		b/a		t		b/a		t		b/a	
	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a
Verdes	0'73	0'45	0'72	0'44	0'68	0'43	0'61	0'34	0'74	0'41	0'82	0'49	0'74	0'48	0'66	0'50	0'75	0'48
Cubiertas	—	—	0'57	0'41	0'60	0'44	0'87	0'47	0'80	0'51	0'68	0'47	0'69	0'49	0'67	0'53	0'69	0'53
Descubiertas	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0'74	0'51	0'69	0'47	0'59	0'49	0'56	0'50
Cloróticas	0'28	0'43	0'35	0'40	0'36	0'37	0'40	0'29	0'49	0'35	0'48	0'44	0'27	0'39	0'29	0'45	0'39	0'42
Días desde el som- breado			4		8		13		17		4		9		14		18	
Intensidad de luz: f. c.			346		37'9		720		833		716		800		620		195	
Horas de insolación .			11		25		56		42		35		51		40		8	

a)

El contenido de clorofila está expresado en mg/g. de peso fresco.

(1) El signo $\overline{\quad}$ \rightarrow representa el paso de cubiertas a descubiertas.

CUADRO X (continuación).

Hojas	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a
Verdes	0'87	0'40	0'62	0'38	0'70	0'40	0'68	0'41	0'50	0'36	0'42	0'36	0'48	0'33	0'46	0'31
Cubiertas	0'53	0'41	0'67	0'43	0'76	0'44	0'79	0'45	0'39	0'37	0'59	0'39	0'51	0'37	0'59	0'38
Descubiertas	0'43	0'35	0'45	0'45	0'43	0'36	0'37	0'35	0'60	0'47	0'48	0'41	0'47	0'36	0'34	0'31
Cloróticas	0'40	0'32	0'33	0'34	0'37	0'27	0'32	0'40	0'28	0'35	0'34	0'37	0'34	0'33	0'32	0'29
Días desde el sombreado	4		8		13		17		4		8		12		17	
Intensidad de luz: f. c.	799		700		650		587		744		800		410		450	
Horas de in- solación	44		47		46		46		48		50		29		38	
Hojas	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a </td></td>	t <td>b/a </td>	b/a
Verdes	0'60	0'38	0'71	0'37	0'68	0'40	0'66	0'36	0'56	0'38	0'49	0'36	0'43	0'38	0'45	0'35
Cubiertas	0'48	0'40	0'57	0'41	0'47	0'41	0'50	0'43	—	—	—	—	—	—	—	—
Descubiertas	0'52	0'30	0'42	0'34	0'51	0'38	0'51	0'35	0'44	0'35	0'32	0'34	0'35	0'35	0'36	0'35
Cloróticas	0'24	0'32	0'38	0'32	0'27	0'33	0'39	0'31	0'33	0'35	0'26	0'33	0'31	0'36	0'32	0'32
Días desde el sombreado	4		8		12		17		4		8		12		16	
Intensidad de luz: f. c.	800		766		630		800		610		800		766		880	
Horas de in- solación	48		45		43		49		31		47		46		45	

b)

c)

CUADRO XI.—Cacahuete: Local (Zaragoza). Variación del cociente clorofila b/clorofila a y de la clorofila total con la intensidad de la luz

Hojas	Valor inicial		t		t		t		t		t		t		t	
	t	b/a	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t
Verdes	1'34	0'39	1'36	0'40	1'44	0'41	1'37	0'40	1'28	0'40	1'22	0'35	1'26	0'34	1'39	0'38
Cubiertas	—	—	1'13	0'41	1'45	0'43	1'62	0'42	1'62	0'39	1'73	0'40	1'55	0'40	2'18	0'45
Descubiertas	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1'32	0'36	1'12	0'34	1'23	0'35
Cloróticas	0'79	0'36	0'78	0'35	0'67	0'37	0'80	0'35	0'94	0'36	0'83	0'35	0'52	0'33	0'83	0'32
Días desde el som- breado	4		8		12		16		5		9		13		17	
Intensidad de la luz: f. c.	450		800		766		630		800		610		800		766	
Horas de insolación	38		48		45		43		49		31		47		46	

a)

El contenido de clorofila está expresado en mg/g. de peso fresco.

CUADRO XI (continuación).

Hojas	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a	t	b/a				
Verdes	1'16	0'36	1'29	0'36	1'32	0'39	1'63	0'39	1'60	0'32	1'54	0'31	1'20	0'30	1'65	0'39	1'54	0'31	1'20	0'30		
Cubiertas	1'22	0'38	1'20	0'36	1'75	0'44	2'07	0'45	1'86	0'40	1'68	0'45	1'87	0'40	1'68	0'41	1'68	0'45	1'87	0'40		
Descubiertas	1'41	0'35	1'30	0'34	0'73	0'36	0'67	0'32	1'52	0'33	1'05	0'27	0'48	0'26	1'77	0'38	1'05	0'27	0'48	0'26		
Cloróticas	0'75	0'35	0'53	0'34	0'70	0'28	0'82	0'30	0'83	0'29	0'90	0'29	0'59	0'23	0'86	0'28	0'90	0'29	0'59	0'23		
Días desde el sombreado	4		8		13		17		8		12		17		4		8		12		17	
Intensidad de luz: f. c.	880		458		747		770		800		900		516		650		800		900		516	
Horas de in- solación	45		25		58		46		47		47		37		42		47		47		37	
Hojas	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td></td>	t <td>b/a <td>t <td>b/a </td></td></td>	b/a <td>t <td>b/a </td></td>	t <td>b/a </td>	b/a		
Verdes	1'25	0'36	1'26	0'37	1'17	0'35	1'06	0'33	1'26	0'34	1'32	0'34	0'88	0'26	1'14	0'36	1'26	0'34	1'32	0'34	0'88	0'26
Cubiertas	0'89	0'35	1'21	0'41	1'49	0'41	1'09	0'40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Descubiertas	1'69	0'39	0'96	0'38	1'07	0'38	1'03	0'34	0'92	0'39	0'79	0'36	0'81	0'30	1'00	0'39	0'92	0'39	0'79	0'36	0'81	0'30
Cloróticas	0'56	0'27	0'73	0'24	0'49	0'25	0'54	0'30	0'52	0'26	0'34	0'25	0'39	0'22	0'48	0'26	0'52	0'26	0'34	0'25	0'39	0'22
Días desde el sombreado	4		8		12		16		8		13		17		3		8		13		17	
Intensidad de luz: f. c.	724		408		766		580		320		619		500		622		320		619		500	
Horas de in- solación	44		26		40		34		21		40		20		19		21		40		20	

b)

c)

total de horas de insolación en los mismos períodos. Las gráficas de las figs. 2, 3 y 4 se han construido con los valores de los cuadros IX (página 19), X (pág. 21) y XI (pág. 23). En dichas gráficas hay que tener en cuenta que la línea media de separación corresponde al día en que se descubren las hojas y, por consiguiente, sólo afecta a las hojas cubiertas.

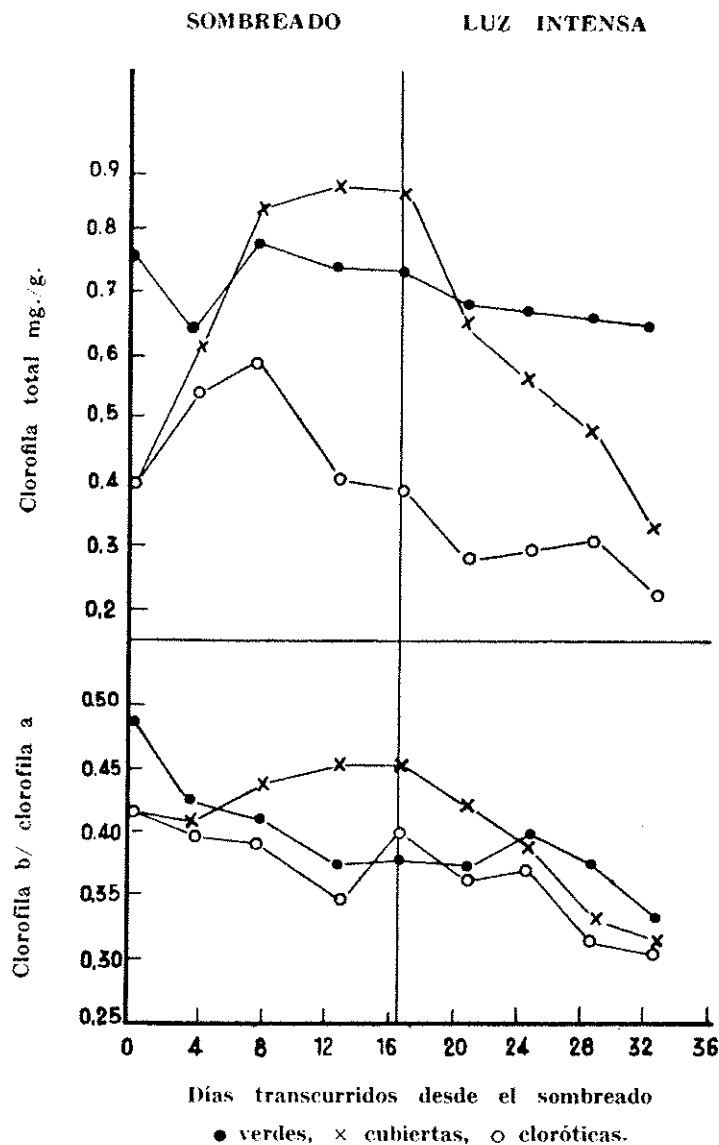


Fig. 2.—Peral: Mantecosa Mortillet.

De la consideración de los datos y gráficas se deduce que la relación b/a es más alta en las hojas sometidas a luz débil (cubiertas), que en las que permanecen en condiciones naturales (verdes y cloróticas); dicha relación aumenta, como la clorofila total, en general, al aumentar el número de días de permanencia en luz débil (ramas ascendentes de las gráficas). En el caso de los cacahuets (cuadro XI),

por ejemplo. en un período de 5 días de permanencia en sombra, la relación b/a experimenta un aumento de 0'04, para un aumento correspondiente de clorofila total de 0'79 mg/g. Y durante 17 días en luz débil, el aumento de la relación b/a alcanza el valor de 0'12 para un aumento de clorofila total de 1'22 mg/g.

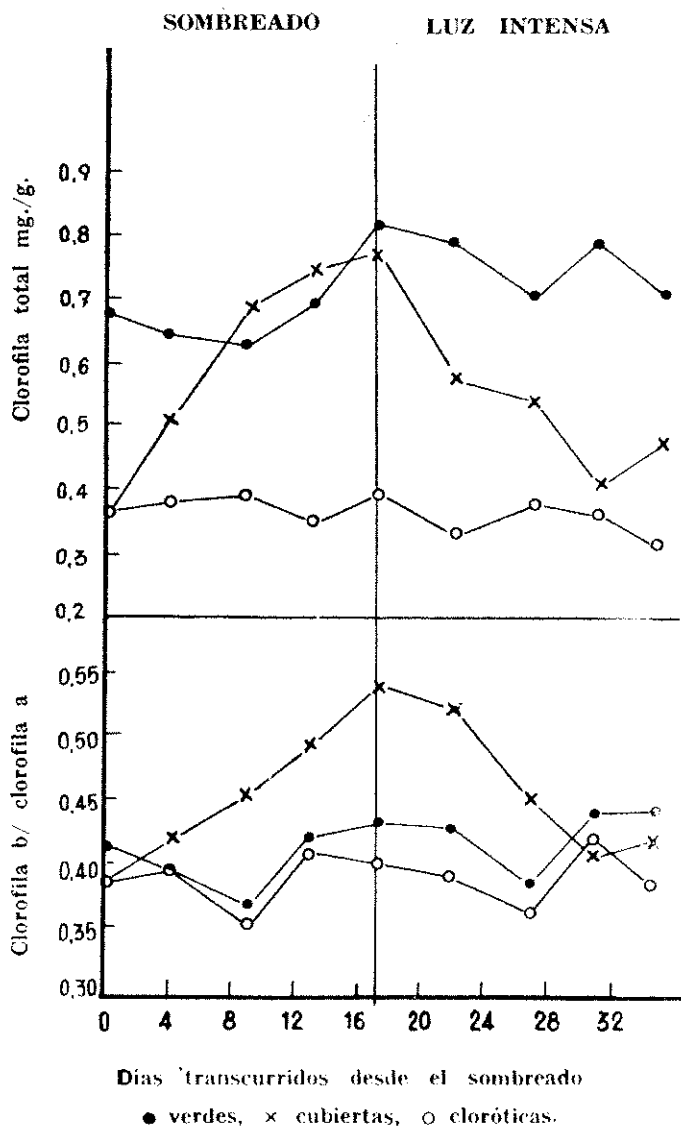


Fig. 3.—Peral: Calabaza Madame Bacheller.

Las variaciones en el contenido de clorofila por aumento de la intensidad luminosa quedan reflejadas cuando las hojas que han permanecido en luz débil se someten a la luz natural intensa; en este caso, la relación b/a experimenta, en general, un descenso gradual al aumentar el número de días de exposición. En el mismo ejemplo anterior, en 5 días de exposición a luz plena, la relación b/a experimenta una disminución de 0'03 para un descenso de clorofila

total correspondiente de 0'3 mg./g. y en 17 días los descensos son de 0'06 y 0'61 mg./g., respectivamente.

La relación b/a es más alta en las hojas verdes que en las cloróticas; a medida que se acentúa la clorosis se obtienen, en general, valores más bajos para dicha relación.

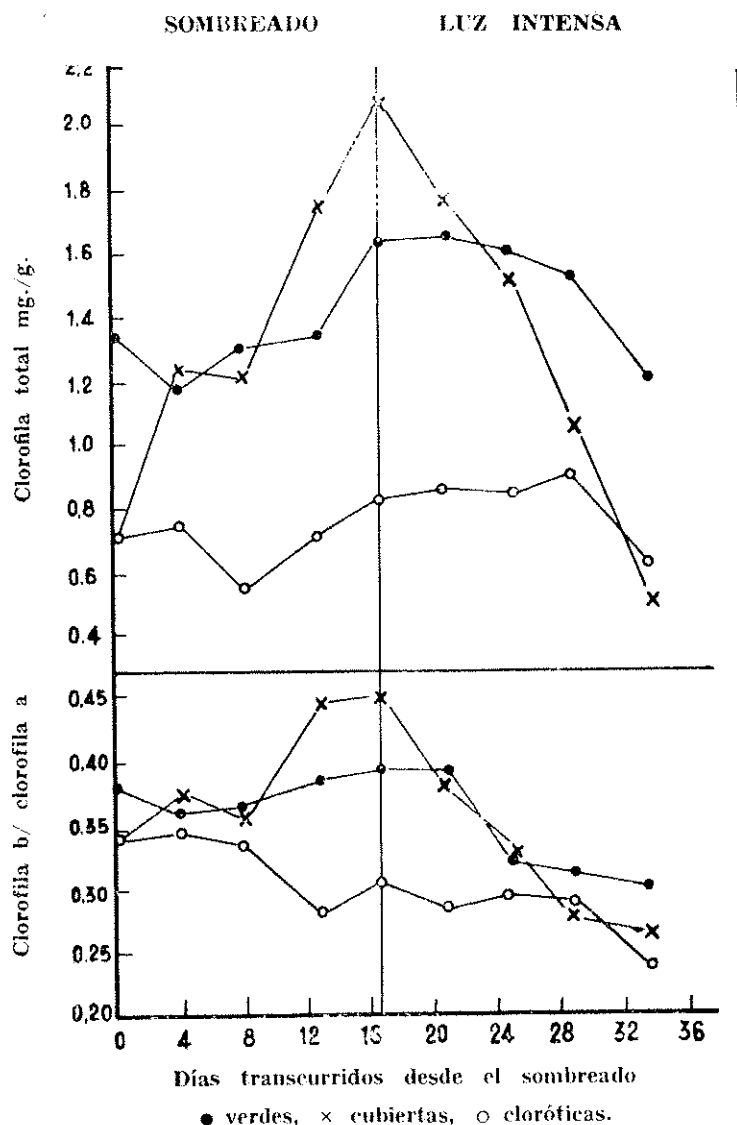


Fig. 4.—Cacahuete: Local (Zaragoza).

Los valores medios de la relación b/a en los tres meses que han durado las experiencias son:

	Peral Mantecosa Mostillet b/a	Peral Calabaza Mma Bachelier b/a	Cacahuete Local b/a
Verdes	0'39	0'38	0'36
Cubiertas	0'41	0'43	0'41
Cloróticas	0'36	0'35	0'30

En resumen: con intensidades de luz crecientes se destruye en mayor proporción la clorofila *b* que la *a*. Cuando disminuye la intensidad de la luz natural en un 98 %, aproximadamente, se forma la clorofila *b* en mayor proporción que la *a*; por consiguiente, *es más lábil o la luz la forma oxidada de la clorofila que la forma reducida, en plantas deficientes en hierro.*

VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN RELACIÓN CON LA CLOROFILA Y LA INTENSIDAD DE LA LUZ.

Para observar las variaciones y posibles relaciones a lo largo del ciclo vegetativo del contenido de ácido ascórbico con clorofila y luz, hemos efectuado determinaciones simultáneamente de la vitamina y clorofila en hojas expuestas a condiciones naturales (verdes y cloróticas) y sometidas a luz débil (cubiertas).

Se han empleado diversas variedades de peral (indicadas en el cuadro XII) y las variedades de cacahuete Local y Virginia jumbo. La parcela empleada para el cultivo de los cacahuetes es la misma de la experiencia anterior (pág. 18) y responde a las mismas características (cuadro VIII). Para la siembra, se han distribuido las variedades al azar.

Las determinaciones de clorofila se han realizado por el método absorciométrico (pág. 7) y las de ácido ascórbico por el procedimiento ya indicado (pág. 8) en las condiciones —luz y temperatura— del laboratorio. Los intervalos de las determinaciones son de 4 días, aproximadamente, a partir de la fecha de sombreado; alrededor de 16 días después, las hojas sombreadas se dejan en luz natural y se continúan las determinaciones, en los mismos intervalos, por espacio de otros 16 días, repitiéndose de nuevo la experiencia a lo largo de la estación.

El cuadro XII muestra los valores de los contenidos en ácido ascórbico, clorofila y relación ascórbico/clorofila, correspondientes a los perales y el cuadro XIII los valores correspondientes a los cacahuetes, variedad Local.

Las gráficas de las figs. 5, 6 y 7, construidas con los valores de los cuadros citados (págs. 29 y 32), indican las variaciones de la relación ascórbico/clorofila en hojas cubiertas, con los días de permanencia en sombreado y luz intensa, así como los valores correspondientes a las hojas verdes y cloróticas, en los mismos días. La línea media de separación sólo afecta —como en las figs. 2, 3 y 4— a las hojas cubiertas.

Una segunda experiencia (cuadro XIV) ha consistido en seguir simultáneamente el curso del contenido de ácido ascórbico y clorofila sobre las dos variedades de cacahuetes ya citadas: Local (erguida y clorótica), y Virginia jumbo (rastrera y resistente a la clorosis), con objeto de establecer la variación, a lo largo del ciclo

CUADRO XII.—*Perales: Mantecosa Mortillet y Calabaza Madame Bachelier. Variación del contenido en clorofila, ácido ascórbico y ascórbico/clorofila con la intensidad de la luz*

Hojas	Valor inicial														
	A	C	R	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	169'2	61'2	2'76	177'1	57'6	3'07	130'4	60'2	2'16	87'2	65'1	1'34	186'5	62'5	2'98
Cubiertas	—	—	—	76'0	32'4	2'34	58'6	39'5	1'46	32'9	40'4	0'81	37'2	46'3	0'80
Cloróticas	148'0	21'8	6'80	197'5	20'0	9'88	146'2	20'6	7'09	105'2	21'9	4'80	197'0	25'4	7'75
Días desde el sombreado					4			8			13			17	
Intensidad de luz: f. c.					856			700			432			749	
Horas de insolación					50			32			18			39	
Hojas													A	C	R
Verdes				120'0	58'8	2'04	130'4	71'5	1'82	105'5	70'0	1'50	239'3	63'3	3'78
Descubiertas				125'0	33'6	3'72	134'1	20'7	6'48	110'3	20'7	5'33	196'5	23'7	8'30
Cloróticas				159'5	17'9	8'90	151'5	19'4	7'80	178'0	18'5	9'61	265'2	21'8	12'5
Días desde el sombreado					21			24			27			31	
Intensidad de luz: f. c.					691			822			621			866	
Horas de insolación					28			25			21			33	

A. Acido ascórbico en mg/100 g. de peso fresco.
 C. Clorofila en tanto por ciento de peso fresco.
 R. Ascórbico/Clorofila.

CUADRO XII (continuación).

Perales: Mantecosa Bedford y Alexandrine Douillard

Hojas	Valor inicial											
	A	C	R	A	C	R	A	C	R	A	C	R
Verdes	173'0	88'3	1'96	176'4	98'0	1'80	143'8	88'5	1'62	160'2	97'3	1'64
Cubiertas	—	—	—	138'1	40'2	3'44	93'2	38'5	2'42	98'7	47'9	2'06
Cloróticas	198'4	32'0	6'20	215'0	29'3	7'34	201'5	35'0	5'75	196'3	31'8	6'16
Días desde el sombreado				3			7			12		
Intensidad de luz: f. c.				935			429			460		
Horas de insolación				33			34			43		
Hojas												
Verdes	199'5	89'6	2'22	188'0	87'5	2'14	199'3	86'4	2'32	190'9	87'3	2'18
Descubiertas	176'0	49'5	3'55	160'5	38'2	4'20	184'2	35'6	5'17	186'8	32'7	5'71
Cloróticas	203'3	26'8	7'57	205'5	32'9	6'25	201'8	30'8	6'55	211'6	31'6	6'70
Días desde el sombreado				20			25			30		
Intensidad de luz: f. c.				780			713			700		
Horas de insolación				48			53			51		

CUADRO XIII (continuación).

Hojas	A			C			R					
	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	176'4	79'3	2'22	157'8	82'4	1'91	195'3	73'9	2'64	126'8	80'7	1'57
Cubiertas	84'6	64'5	1'31	63'4	80'9	0'78	69'5	89'7	0'77	27'9	95'7	0'28
Cloróticas	132'3	50'4	2'62	137'2	43'6	3'14	174'6	43'2	4'05	132'7	45'6	2'50
Días desde el sombreado . . .		5			9			13			17	
Intensidad de luz: f. c. . . .		800			607			858			654	
Horas de insolación		59			36			45			47	
Hojas	A			C			R					
	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	141'5	75'6	1'87	169'3	76'5	2'21	212'9	70'2	3'03	194'6	72'1	2'70
Descubiertas	100'2	75'9	0'75	84'2	71'2	1'18	159'5	40'1	3'98	148'8	33'4	4'45
Cloróticas	120'1	34'4	3'49	150'5	36'8	4'09	174'1	23'9	7'30	163'0	25'7	6'35
Días desde el sombreado . . .		21			26			31			35	
Intensidad de luz: f. c.		766			570			740			508	
Horas de insolación		45			54			57			36	

CUADRO XIII (continuación).

Hojas	A			C			R					
	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	212'9	70'2	3'03	187'3	78'7	2'38	175'1	71'2	2'46	135'2	76'9	1'76
Cubiertas	110'0	52'3	2'10	40'2	56'4	0'71	43'6	57'0	0'76	36'6	59'8	0'61
Cloróticas	174'1	23'9	7'30	147'1	25'4	5'80	158'4	27'3	5'80	149'6	26'4	5'67
Días desde el sombreado . . .		5			9			13			16	
Intensidad de luz: f. c. . . .		740			508			800			566	
Horas de insolación		57			36			43			30	
Hojas	A			C			R					
	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	172'5	74'4	3'32	139'8	84'2	1'66	186'3	63'4	2'94	246'2	62'5	3'94
Descubiertas	61'5	37'0	1'66	55'8	30'0	1'86	136'5	34'7	3'93	185'0	20'5	9'23
Cloróticas	138'2	28'6	4'83	112'5	18'7	6'02	186'0	16'1	11'55	243'2	21'6	11'25
Días desde el sombreado . . .		18			22			26			29	
Intensidad de luz: f. c. . . .		583			732			625			785	
Horas de insolación		17			43			32			32	

CUADRO XIII (continuación).

Hojas	A			C			R					
	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	180'5	65'4	2'76	246'2	62'5	3'94	197'4	57'3	3'44	176'1	58'0	3'04
Cubiertas	136'5	40'3	3'38	157'4	36'0	4'37	105'0	39'7	2'64	64'5	37'2	1'73
Cloróticas	178'0	14'6	12'20	207'8	16'6	12'50	179'9	18'0	10'00	175'3	15'7	11'15
Días desde el sombreado . . .	4			8			12			16		
Intensidad de luz: f. c.	630			800			600			475		
Horas de insolación	32			43			32			29		
Hojas	A			C			R					
	A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Verdes	187'5	53'9	3'48	190'5	42'8	4'45	154'1	34'7	4'44	149'3	29'0	5'15
Descubiertas	123'4	24'8	4'97	126'5	20'5	6'17	124'5	20'3	6'14	120'5	19'0	6'35
Cloróticas	163'2	15'0	10'90	154'4	13'8	11'20	131'2	14'0	9'37	122'2	15'7	7'80
Días desde el sombreado . . .	19			25			29			33		
Intensidad de luz: f. c.	600			610			346			600		
Horas de insolación	24			56			19			32		

vegetativo, del contenido de ácido ascórbico en ambas variedades de tan diferentes características. Las determinaciones se han efectuado cada 2-3 días, aproximadamente, y cada experiencia se ha prolongado durante 18 días, repitiéndose hasta el fin de la estación.

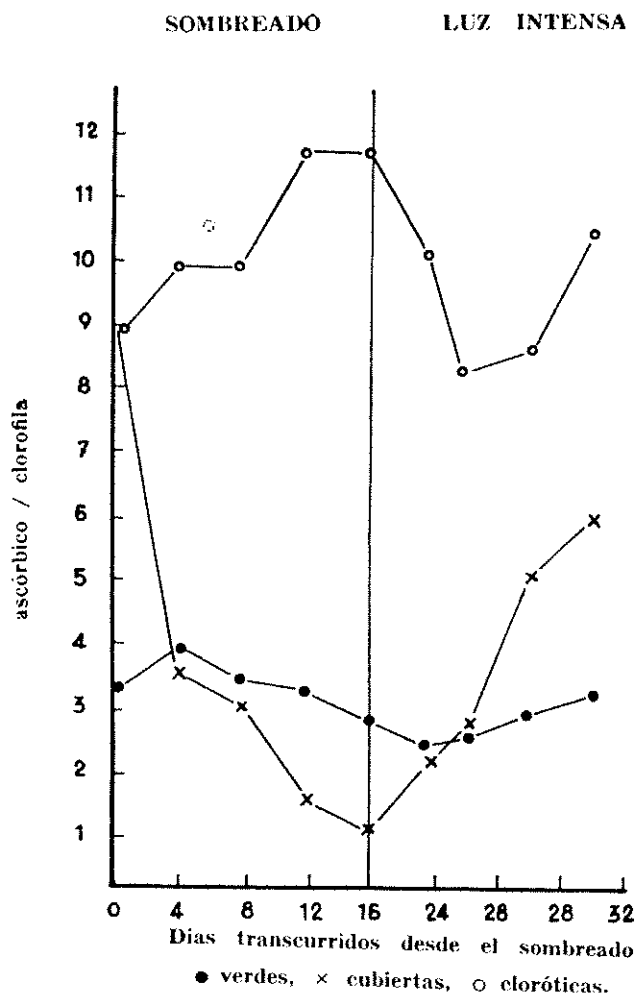


Fig. 5.—Perales: Passe Crassane y Beurré Le Brun

Por último, se ha realizado una experiencia en cámara con iluminación regulada, procedente de una lámpara de mercurio «Philips», H. O. 2.000, 450 w, que proporciona una intensidad de luz reflejada de 8 f. c., y como material las dos variedades de cacahuets ya citadas. Se han empleado 20 macetas (10 de cada variedad), colocadas en círculo a un metro de distancia de la lámpara, y se han dejado otras tantas como testigo; las plantas de la cámara reciben 12 horas de luz diarias. Las determinaciones se han efectuado en diversos días y los resultados se expresan en el cuadro XV.

En todos los casos se observa que el contenido de ácido ascórbico disminuye, sin llegar a anularse, cuando decrece la intensidad de la

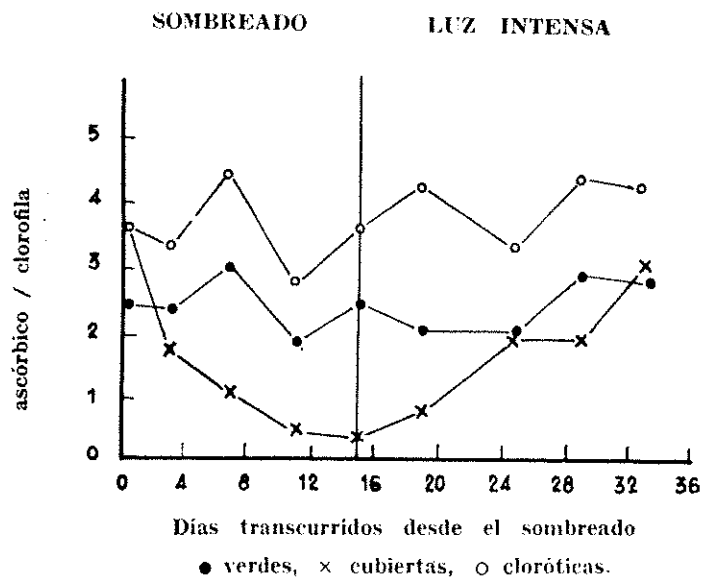


Fig. 6.—Perales: M. Bedford y Alexandrine Douillard.

luz y, en general, a medida que aumenta el número de días de sombreado. En un período aproximado de 4 días en luz débil, se obtienen en el material empleado (cuadros XII y XIII) reducciones que oscilan entre 18 y 50 % y en 16 días entre 46 y 84 %.

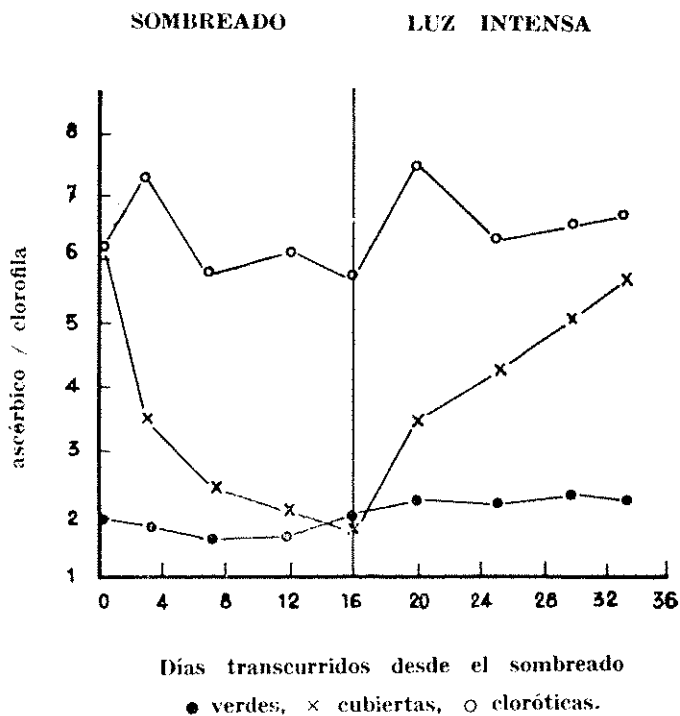


Fig. 7.—Cacahuete: Local (Zaragoza).

CUADRO XIV.—Cacahuete: Local y Virginia jumbo. Variación del contenido en clorofila, ácido ascórbico y ascórbico/clorofila con la intensidad de la luz

Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	86'3	71'0	1'21	90'4	74'8	1'21	96'2	62'2	1'39	145'5	74'5	1'95
Local	Cubiertas	34'5	52'2	0'66	55'8	59'3	0'94	17'5	59'0	0'29	15'4	60'1	0'25
Local	Cloróticas	79'3	27'0	2'94	98'6	27'3	3'60	106'9	30'8	3'48	133'5	44'0	3'04
Días desde el sombreado . . .		2			4			6			9		
Horas de insolación		26			22			23			38		
Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	100'3	70'2	1'43	185'0	79'6	2'32	154'6	76'4	2'02	126'0	77'3	1'63
Local	Cubiertas	16'2	66'5	0'24	14'9	88'7	0'17	17'7	82'3	0'21	18'6	80'0	0'23
Local	Cloróticas	100'4	52'2	1'92	217'0	59'1	3'67	164'5	51'0	3'22	173'2	53'6	3'23
Días desde el sombreado . . .		11			13			16			18		
Horas de insolación		26			26			25			37		

A, Acido ascórbico en mg/100 g. de peso fresco.

C, Clorofila en tanto por ciento de peso fresco.

R, Ascórbico/Clorofila.

CUADRO XIV (continuación).

Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	126'0	77'3	1'63	139'4	68'9	2'02	75'5	69'2	1'09	248'6	73'7	3'37
Local	Cubiertas	84'6	62'5	1'35	25'7	64'0	0'40	20'3	66'5	0'30	48'0	69'7	0'69
Local	Cloróticas	173'2	53'6	3'23	112'5	51'7	2'18	88'4	52'0	1'70	233'7	44'3	5'27
Días desde el sombreado . . .		2			4			7			9		
Horas de insolación		25			25			36			22		
Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	185'6	82'0	2'26	155'5	82'5	1'88	214'5	76'4	2'80	167'6	75'7	2'20
Local	Cubiertas	20'2	84'3	0'34	18'5	84'6	0'22	27'4	85'0	0'32	25'8	82'3	0'31
Local	Cloróticas	172'0	42'3	4'06	163'5	42'2	3'87	226'6	39'7	5'70	149'5	41'6	3'58
Días desde el sombreado . . .		11			14			16			18		
Horas de insolación		23			31			23			21		

CUADRO XIV (continuación).

Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	138'8	81'2	1'70	132'8	73'4	1'80	215'6	77'9	2'77	145'0	74'8	1'94
Local	Cubiertas	82'3	61'5	1'34	49'7	60'2	0'80	53'8	60'6	0'89	46'3	74'3	0'62
Local	Cloróticas	116'5	38'6	3'02	169'0	40'4	4'20	231'7	37'5	6'15	227'5	36'0	6'30
	Días desde el sombreado . . .		2			5			7			9	
	Horas de insolación		21			25			14			22	
Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	270'3	68'6	3'95	277'4	72'0	3'85	120'8	65'2	1'85	134'5	70'4	1'91
Local	Cubiertas	51'5	74'6	0'69	43'6	87'2	0'50	36'9	76'0	0'48	28'3	75'0	0'38
Local	Cloróticas	299'4	30'2	9'90	298'2	48'3	6'18	143'8	46'8	3'07	143'0	49'4	2'90
	Días desde el sombreado . . .		12			15			17			19	
	Horas de insolación		33			34			23			23	

CUADRO XIV (continuación).

Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Verdes	148'6	67'3	2'20	150'7	67'1	2'25	145'5	60'2	2'42	171'0	57'4	2'98
Local	Cubiertas	131'2	58'3	2'24	98'5	69'0	1'67	50'5	54'3	0'93	47'8	49'5	0'97
Local	Cloróticas	167'3	35'5	4'71	212'0	31'6	6'70	137'8	34'0	4'05	189'3	25'6	7'35
Días desde el sombreado . . .		2			7			9			11		
Horas de insolación		11			54			22			22		
Variedad	Hojas	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R	A	C	R
Virginia	Verdes	141'8	64'3	2'20	129'2	65'0	1'99	139'0	66'8	2'08	176'1	57'2	3'09
Local	Cubiertas	53'6	49'8	1'08	50'9	52'5	0'97	45'0	62'4	0'72	27'1	64'3	0'42
Local	Cloróticas	209'4	21'4	9'77	156'3	24'8	6'30	198'7	30'0	6'62	109'0	28'2	3'89
Local	Seminecróticas	32'4	0'0	—	26'2	0'0	—	19'7	0'0	—	4'9	0'0	—
Local	Necróticas	0'0	0'0	—	0'0	0'0	—	0'0	0'0	—	0'0	0'0	—
Días desde el sombreado . . .		14			17			19			21		
Horas de insolación		33			34			22			22		

CUADRO XV.—Cacahuete: Local y Virginia jumbo. Variación del contenido en clorofila, ascórbico y ascórbico/clorofila en cámara con iluminación regulada

Variedad	Cámara » Testigo »	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Cámara	44'3	98'8	0'45	13'1	92'3	0'14	4'9	92'5	0'05	6'8	93'4	0'07
Local	»	58'4	93'5	0'62	27'2	84'5	0'32	9'9	86'7	0'11	12'6	87'4	0'14
Virginia	Testigo	152'2	60'3	2'55	137'0	74'3	1'84	164'3	78'4	2'10	112'2	72'0	1'56
Local	»	166'1	42'2	3'95	149'8	38'7	3'86	172'9	43'8	3'95	144'0	45'6	3'15
Días de permanencia en la cámara		5			12			19			29		
Variedad	Cámara » Testigo »	A			C			R					
		A	C	R	A	C	R	A	C	R			
Virginia	Cámara	5'4	90'6	0'06	5'0	91'7	0'05	3'9	92'0	0'04	4'2	87'3	0'05
Local	»	9'7	87'0	0'11	8'3	85'0	0'10	7'6	83'8	0'09	7'9	74'3	0'10
Virginia	Testigo	126'4	73'6	1'72	146'7	58'9	2'50	127'8	64'2	1'98	142'5	59'4	2'40
Local	»	140'7	40'3	3'00	157'5	38'2	4'10	138'1	33'5	4'12	144'2	30'0	4'80
Días de permanencia en la cámara		47			57			68			76		

A, Acido ascórbico en mg/100 g. de peso fresco.

C, Clorofila en tanto por ciento de peso fresco.

R, Ascórbico/Clorofila.

Cuando las hojas que se han mantenido en la luz débil durante 16 días se someten a luz intensa, aumenta el contenido de ácido ascórbico: en 4 días, aproximadamente, se registran aumentos que alcanzan hasta el 250 % y en 16 días hasta el 430 %.

Las hojas verdes y cloróticas presentan valores bastante próximos, con tendencia a ser más altos en las cloróticas (cuadro XII), en el caso de los perales, y más bajos en las mismas (cuadro XIII), cuando se trata de cacahuets. Parece, pues, que *la síntesis del ácido ascórbico está estrechamente relacionada con la luz, pero no guarda relación directa con la clorofila.*

La relación ascórbico/clorofila es menor, en todos los casos, en las hojas verdes que en las cloróticas, puesto que para valores muy próximos de ácido ascórbico, los contenidos en clorofila son mucho más bajos en las hojas cloróticas. En las cubiertas, dicha relación va disminuyendo en general, progresivamente al aumentar el tiempo de sombreado, como corresponde a la menor síntesis de ácido ascórbico, por una parte, y al aumento correspondiente de clorofila, por otra. Cuando, después de 16 días de permanencia en luz débil, sometemos las hojas a luz intensa, se obtiene nuevamente un aumento de dicha relación (figs. 5, 6 y 7).

El cuadro XIV indica que existe una influencia varietal sobre el contenido de ácido ascórbico en las plantas: la variedad Virginia jumbo, resistente a la clorosis, presenta un contenido en ácido ascórbico más bajo que la variedad Local, susceptible, y, por consiguiente, los valores de R presentan diferencias menos acusadas entre hojas cloróticas (var. Local) y verdes (var. Virginia), que cuando se comparan estos valores dentro de la misma variedad (cuadro XIII). Esto constituye un argumento más en favor de nuestra afirmación de que el contenido de ácido ascórbico no está relacionado directamente con el de clorofila.

Los cuadros XIII y XIV muestran, además, que el contenido de ácido ascórbico experimenta algunas variaciones a lo largo del ciclo vegetativo. Los valores medios obtenidos son:

Variedad	Hojas	Acido ascórbico mg./100 g.			
		Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Local	Verdes	169'7	171'8	181'9	185'2
Local	Cloróticas	152'4	148'1	163'6	164'0
Virginia	Verdes	123'0	164'1	179'4	150'2
Local	Cloróticas	134'2	164'9	203'6	172'5

es decir, que el contenido de ácido ascórbico es más bajo durante la floración que en la fructificación, lo que probablemente será debido a una circulación menos intensa de la savia y a un transporte

menos activo de los productos elaborados (LECAT, 1951). Cuando las hojas presentan síntomas de senectud (manchas necróticas cuadro XIV) al final de la estación, baja considerablemente el contenido de ácido ascórbico, reduciéndose a 0 en las hojas necróticas.

El cuadro XV nos lleva a las mismas conclusiones anteriores: tanto en la cámara con iluminación regulada como en las macetas testigo, la variedad resistente presenta un contenido más alto de clorofila y más bajo de ácido ascórbico que la variedad susceptible. Y para una misma variedad, las plantas sometidas a una iluminación de 8 f. c. presentan siempre más alto contenido en clorofila y más bajo en ácido ascórbico que las plantas testigo correspondientes. El valor de R es más bajo en las hojas pertenecientes a la variedad Virginia que en las de la Local, tanto en las plantas de la cámara como en las testigo, y para una misma variedad aquel valor es más bajo en condiciones de intensidad de luz reducida (cámara) que en las plantas testigo.

Al cabo de 18 días de permanencia de las plantas en una intensidad de 8 f. c., durante 12 horas diarias, en condiciones controladas, se estabiliza prácticamente el valor del contenido en ácido ascórbico y de la relación ascórbico-clorofila.

INFLUENCIA DEL APORTE DE ÁCIDO SULFÚRICO Y ÁCIDO ASCÓRBICO A LAS HOJAS DE PLANTAS CLORÓTICAS.

Con objeto de averiguar la influencia que puedan tener los ácidos ascórbico y sulfúrico en la corrección de los síntomas de clorosis, hemos efectuado un aporte de estas sustancias a las hojas por inyección peciolar e incisión, cuyas respuestas pudieran arrojar alguna luz sobre el papel que dichos compuestos ejercen en las hojas. Como punto de referencia se ha tomado el Fe SO_4 (0'025 %).

Las inyecciones por incisión se han colocado en la segunda y tercera hojas formadas y las peciolares en la quinta hoja.

Para el aporte de ácido ascórbico se ha tenido en cuenta la concentración media de las hojas verdes de peral, que es aproximadamente de 0'152 %, el peso medio de una hoja, aproximadamente 0'30 grs., y el volumen de una inyección por incisión, 0'05 cc.; de aquí resulta una concentración de la solución para las inyecciones de 0'91 %, aproximadamente.

Hemos probado varias concentraciones en diversas variedades de peral y cacahuets. No todas las variedades reaccionan de la misma manera, pero la concentración óptima parece la de 0'80 % y es la que adoptamos. El ácido sulfúrico lo empleamos al 0'025 %.

Limitándonos únicamente a las variedades de peral y cacahuete más empleadas por nosotros, podemos resumir los resultados en el cuadro XVI.

CUADRO XVI.—Influencia del aporte de ácido ascórbico y ácido sulfúrico a las hojas de plantas cloróticas

	Ascórbico		Sulfúrico		Sulfato ferroso	
	i	días	i	días	i	días
Peral	+	6	+	3-4	+	2-3
Mantecosa Mortillet						4
Peral	+	7	+	4	+	4
Calabaza Mme. Bachelier						
Cacahuete	+	5	+	4	+	2
Local						3

- i, Inyección por incisión.
- p, Inyección peciolar.
- +, Respuesta positiva.
- , Respuesta negativa.
- ?, Sin datos.

De dichos resultados se deduce que ambos ácidos son eficaces en la corrección de los síntomas de la clorosis, produciendo un enverdecimiento en la zona de difusión. El ácido sulfúrico da respuesta positiva casi al mismo tiempo que el sulfato ferroso y con las mismas características exteriores que él. El ácido ascórbico da la reacción con más lentitud y la zona enverdecida ocupa menor extensión que en el caso del sulfúrico o el sulfato ferroso. Usado en inyección pecciolar no produce enverdecimiento en los espacios intervenales, pero se refuerza el color en las venas.

INFLUENCIA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA FOTODESCOMPOSICIÓN DE LA CLOROFILA, EN SOLUCIÓN DE ACETONA.

Se ha practicado una experiencia «in vitro» para observar la influencia que ejerce el ácido ascórbico sobre una solución de clorofila, cuando sobre la misma actúa la luz solar intensa.

Hemos empleado plantas de cacahuete, variedad Local, y para la extracción de clorofila se ha seguido el método de A. O. A. C. (1950):

Se extrae la clorofila de un gramo de hojas con 100 cc. de acetona al 85 %. 50 cc. de estas soluciones se colocan en vasos cilíndricos de 100 cc., se añaden 0'50 gr. de ácido ascórbico a cada uno, dejando el mismo número de vasos como testigo, y se exponen al sol sobre fondo blanco. Se enrasan nuevamente los matraces y se efectúa la determinación espectrofotométrica.

Las experiencias se han efectuado por duplicado y los resultados se expresan en cuadro XVII, en mg./g. de peso fresco.

Estos resultados muestran que, mientras las soluciones carentes de ácido ascórbico experimentan una reducción media del contenido en clorofila del orden de 60 %, cuando se exponen a la luz natural intensa, las que contienen ácido ascórbico reducen su valor en un 70 %, aproximadamente. (KRASNOVSKII *et al.*, 1949 y ARONOFF y MACKINNEY, 1943.) Por consiguiente, *el ácido ascórbico acelera la fotodescomposición de la clorofila, en solución de acetona al 85 %.*

VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE HIERRO SOLUBLE EN RELACIÓN CON LA INTENSIDAD LUMINOSA.

La peculiar clorosis estudiada en la que concurren la influencia de la luz y el hierro, da interés especial a este elemento. Por este motivo hemos realizado determinaciones de hierro soluble en hojas de peral y cacahuets verdes, cubiertas y cloróticas, para observar la influencia que pueda tener un descenso de la intensidad lumino-

CUADRO XVII.—Variación del contenido de clorofila en solución de acetona, en relación con ascórbico y luz

Hojas	Clorofila en mg/g de peso fresco					
	i	s	a	i	s	a
Verdes	1'16	0'42	0'30	1'63	0'55	0'49
Cubiertas	1'22	0'44	0'31	1'75	0'54	0'50
Cloróticas	0'75	0'32	0'21	0'82	0'30	0'22
Tiempo de exposición . Intensidad de luz: f. c.	4 min. 866			4 min. 770		
Clorofila en mg/g de peso fresco						
Hojas	i	s	a	i	s	a
Verdes	1'20	0'50	0'45	1'32	0'52	0'41
Cubiertas	1'36	0'68	0'58	1'75	0'57	0'53
Cloróticas	0'59	0'22	0'19	0'34	0'15	0'11
Tiempo de exposición . Intensidad de luz: f. c.	5 min. 516			5 min. 619		
Clorofila en mg/g de peso fresco						
Hojas	i	s	a	i	s	a
Verdes	1'20	0'50	0'45	1'32	0'52	0'41
Cubiertas	1'36	0'68	0'58	1'75	0'57	0'53
Cloróticas	0'59	0'22	0'19	0'34	0'15	0'11
Tiempo de exposición . Intensidad de luz: f. c.	5 min. 516			5 min. 619		

i, Contenido inicial.
s, Exposición sin ácido ascórbico.
a, Exposición con ácido ascórbico.

sa sobre el contenido de aquel elemento; los valores hallados se muestran en los cuadros XVIII y XIX.

El material empleado, así como las fechas de determinación y períodos de sombreado, corresponden, respectivamente, a los de los cuadros XII y XIII; las cifras de clorofila, intensidad de luz reflejada, máxima media y horas de insolación de cada uno de los períodos se encuentran, por tanto, en dichos cuadros.

De estos resultados se deduce que las hojas cubiertas muestran en todos los casos valores más altos de hierro soluble que las cloróticas, es decir, *al disminuir la intensidad luminosa se produce una movilización del hierro soluble.*

De acuerdo con los autores anteriormente citados (pág. 4), el contenido hierro soluble de las hojas cloróticas es más bajo que el de las hojas verdes.

VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD CATALÁSICA EN RELACIÓN CON LA INTENSIDAD DE LA LUZ.

Se ha empleado el mismo material y seguido el mismo criterio, respecto a períodos y duración de las experiencias, que en las que se refieren a clorofila (pág. 18, cuadro IX, X y XI) y, aunque las determinaciones se han efectuado, en general, con un día de diferencia respecto a aquéllas, los valores de clorofila allí reseñados pueden servirnos para establecer una relación aproximada entre clorofila y catalasa.

Las determinaciones se han efectuado (pág. 8) en las condiciones —luz, temperatura, presión— del laboratorio, reduciéndose después los datos a condiciones normales.

Los resultados obtenidos (cuadros XX, XXI y XXII) para las dos clases de material, perales y cacahuets, indican que las hojas mantenidas en luz débil muestran siempre valores más altos de actividad catalásica que las expuestas a iluminación natural intensa. En períodos aproximados de 4 días, la actividad catalásica llega a alcanzar aumentos del orden de 60-380 % en perales y de 92-161 % en cacahuets, para aumentos aproximados en el nivel de clorofila de 22-100 % y 51-100 %, respectivamente (cuadros IX, X, XI).

La actividad catalásica experimenta una reducción cuando, después de 17 días de permanencia en luz débil, se exponen de nuevo las hojas a la luz intensa. En 4 días se obtienen descensos de la actividad catalásica de 37-73 % en perales y de 14-55 % en cacahuets, para reducciones aproximadas en el contenido de clorofila de 75-30 % y 10-34 %, respectivamente.

En luz plena, las hojas cloróticas dan siempre valores más bajos de actividad catalásica que las verdes.

CUADRO XVIII.—Variación del contenido en hierro soluble con la intensidad de la luz

Perales: Mantecosa Mortillet y Calabaza Mme. Bachelier

Hojas	Días transcurridos desde el sombreado						
	4	8	13	17	21	24	31
Verdes	0'0095	0'0105	0'0096	0'0088	0'0102	0'0088	0'0077
Cubiertas	0'0102	0'0102	0'0093	0'0082	0'0088	0'0071	0'0068
Cloróticas	0'0079	0'0093	0'0084	0'0080	0'0079	0'0057	0'0071

Perales: Passe Crassane y Beurré Le Brun

Hojas	Días transcurridos desde el sombreado						
	4	8	12	16	20	22	30
Verdes	0'0098	0'0095	0'0087	0'0105	0'0112	0'0092	0'0078
Cubiertas	0'0086	0'0108	0'0105	0'0096	0'0089	0'0093	0'0068
Cloróticas	0'0065	0'0062	0'0082	0'0087	0'0088	0'0082	0'0070

Perales: Mantecosa Bedford y Alexandrine Douillard

Hojas	Días transcurridos desde el sombreado						
	3	7	12	16	20	25	33
Verdes	0'0140	0'0136	0'0140	0'0148	0'0127	0'0136	0'0149
Cubiertas	0'0113	0'0136	0'0125	0'0137	0'0119	0'0130	0'0115
Cloróticas	0'0108	0'0112	0'0128	0'0117	0'0119	0'0115	0'0127

Los valores están expresados en tanto por ciento de materia seca.

CUADRO XIX.—Cacahuete: Local. Variación del contenido en hierro soluble con la intensidad de la luz

Hojas	Días transcurridos desde el sombreado									
	3	7	11	15	19	25	29	33		
Verdes	0'0120	0'0108	0'0121	0'0117	0'0132	0'0124	0'0116	0'0126		
Cubiertas	0'0117	0'0125	0'0129	0'0121	0'0130	0'0118	0'0132	0'0096		
Cloróticas	0'0099	0'0107	0'0115	0'0094	0'0099	0'0087	0'0119	0'0110		
Hojas	Días transcurridos desde el sombreado									
	5	9	13	17	21	26	31	35		
Verdes	0'0128	0'0130	0'0127	0'0146	0'0107	0'0113	0'0112	0'0126		
Cubiertas	0'0118	0'0127	0'0120	0'0107	0'0113	0'0119	0'0121	0'0116		
Cloróticas	0'0108	0'0096	0'0102	0'0090	0'0099	0'0092	0'0106	0'0095		

Los valores están expresados en tanto por ciento de materia seca.

CUADRO XIX (continuación).

Hojas	Días transcurridos desde el sombreado							
	5	9	13	16	18	22	26	29
Verdes	0'0112	0'0126	0'0145	0'0140	0'0132	0'0145	0'0157	0'0125
Cubiertas	0'0121	0'0126	0'0121	0'0137	0'0135	0'0119	0'0132	0'0134
Cloróticas	0'0106	0'0109	0'0115	0'0110	0'0122	0'0114	0'0099	0'0112
Hojas	Días transcurridos desde el sombreado							
	4	8	12	16	19	25	29	33
Verdes	0'0121	0'0110	0'0116	0'0106	0'0096	0'0101	0'0092	0'0094
Cubiertas	0'0126	0'0105	0'0120	0'0118	0'0106	0'0098	0'0095	0'0096
Cloróticas	0'0097	0'0113	0'0083	0'0079	0'0089	0'0093	0'0070	0'0087

Tanto en los cuadros XX, XXI y XXII como en las gráficas (figuras 8, 9 y 10) construídas con algunos valores de aquéllos, observamos que la actividad catalásica experimenta aumentos rápidos al disminuir la intensidad luminosa y, una vez formada la catalasa, es tan

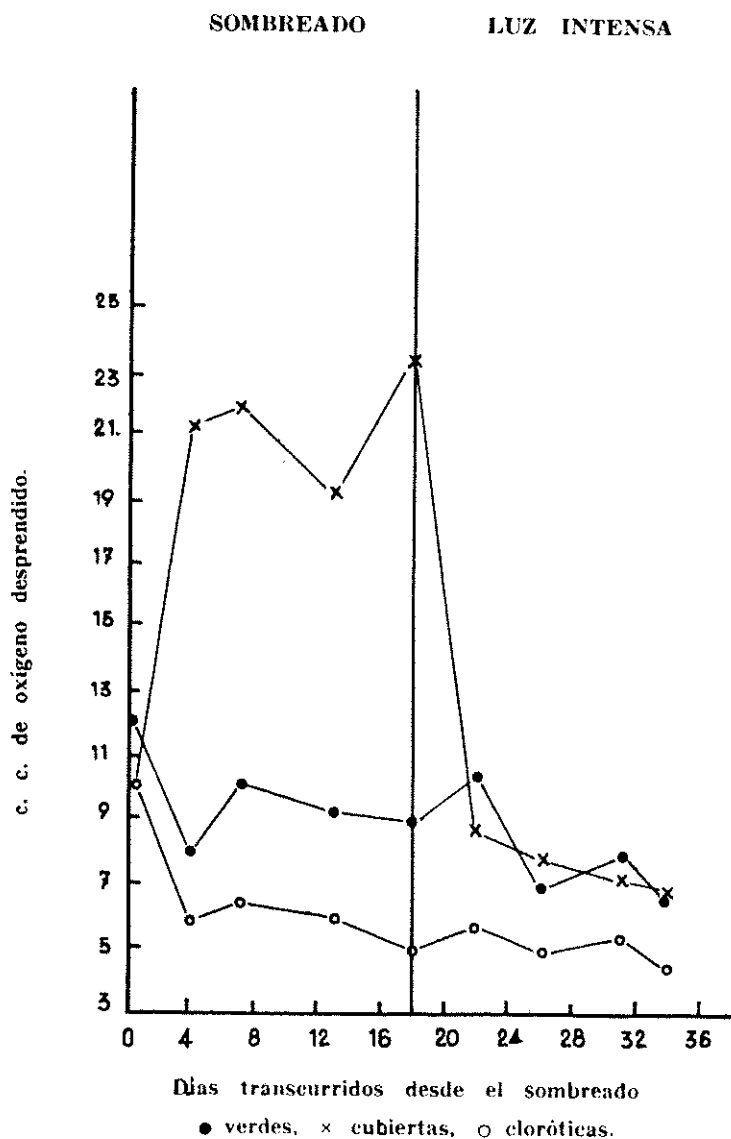


Fig. 8.—Peral: Mantecosa Mortillet.

sensible a la acción de la luz intensa que, probablemente al poco tiempo de exposición, se produce la ostensible disminución de la actividad catalásica, para dar valores muy regulares en días subsiguientes de exposición. Si comparamos estas gráficas con las correspondientes a la clorofila (fig. 3, 4 y 5), observamos que existe una diferencia notable entre el curso de formación y fotodescomposición de la catalasa y

CUADRO XX.—Peral: *Mantecosa Mortillet*. Variación de la actividad catalásica con la intensidad de la luz

Hojas	Valor inicial	Días transcurridos desde el sombreado											
		5	10	14	18	5	8	14	19	4	8	13	16
Verdes	8'8	10'5	7'3	5'5	12'2	7'8	10'1	9'2	8'9	10'3	6'7	7'9	6'4
Cubiertas	—	20'3	27'8	18'0	34'8	21'4	22'0	18'9	23'7	23'2	19'4	19'3	20'6
Descubiertas	—	—	—	—	—	→ 14'3	9'7	9'0	8'0	→ 8'7	7'6	7'2	6'6
Cloróticas	4'3	8'4	5'3	4'4	10'1	5'7	6'4	5'9	4'8	5'7	4'7	5'3	4'2
Intensidad de luz: f. c.		776	790	750	376	403	750	780	563	730	780	770	470
Horas de insolación . .		63	49	41	20	29	33	68	47	46	49	50	23

Hojas	Valor inicial	Días transcurridos desde el sombreado											
		5	9	13	18	4	8	14	18	3	7	11	15
Verdes	8'5	6'9	8'1	7'8	10'0	10'3	8'0	8'5	8'3	9'6	7'8	8'5	8'5
Cubiertas	20'2	13'0	16'3	15'2	17'9	17'6	12'5	13'8	—	—	—	—	—
Descubiertas	→ 8'8	8'7	8'4	9'6	→ 8'9	6'3	8'7	8'2	→ 8'0	7'7	6'9	6'9	7'3
Cloróticas	5'9	2'5	5'6	5'2	7'1	6'5	6'8	7'2	7'6	7'9	6'4	6'4	6'2
Intensidad de luz: f. c.		480	786	633	638	700	550	800	800	740	508	800	790
Horas de insolación . .		44	47	46	51	39	30	70	45	36	24	45	46

Los valores están expresados en cc. de oxígeno desprendido.

CUADRO XXII.—Cacahuete: Local. Variación de la actividad catalásica con la intensidad de la luz

Hojas	Valor inicial	Días transcurridos desde el sombreado														
		5	9	13	17	4	9	13	17	1	6	10	14	18		
Verdes	16'8	17'2	20'0	20'5	15'2	18'4	13'1	14'0	13'8	16'6	20'4	19'7	15'5	16'0		
Cubiertas	—	17'5	24'9	21'7	21'8	31'1	27'1	26'8	27'7	14'9	27'4	33'5	28'4	29'3		
Descubiertas	—	—	—	—	—	→17'3	13'7	12'7	12'5	→14'3	15'9	13'2	8'7	10'4		
Cloróticas	9'1	8'4	11'2	11'8	12'6	14'2	8'3	8'9	9'0	9'2	10'4	8'6	10'7	9'6		
Intensidad de luz: f. c. . . .		556	740	750	632	600	700	800	800	800	740	508	800	790		
Horas de insolación		52	45	49	37	34	49	47	45	11	36	24	45	46		

Hojas	Días transcurridos desde el sombreado														
	4	9	13	17	3	7	11	14	3	7	10	15			
Verdes	14'3	19'5	19'8	20'0	15'8	16'2	14'7	14'1	8'7	9'3	11'8	12'0			
Cubiertas	22'8	33'5	29'0	23'6	19'7	21'0	18'5	20'5	—	—	—	—			
Descubiertas	→19'2	10'6	9'0	9'6	→20'2	13'4	9'0	8'2	→9'2	8'6	8'5	9'7			
Cloróticas	7'7	8'0	8'7	9'4	7'2	6'7	6'3	6'4	7'3	6'7	6'0	7'1			
Intensidad de luz: f. c. . . .	558	900	700	458	677	450	740	566	733	200	427	630			
Horas de insolación	42	56	37	35	33	27	40	25	25	15	17	38			

Los valores están expresados en cc. de oxígeno desprendido

la de la clorofila, ya que en el caso de esta última se efectúan de una manera gradual, mientras que las variaciones de la catalasa son muy bruscas.

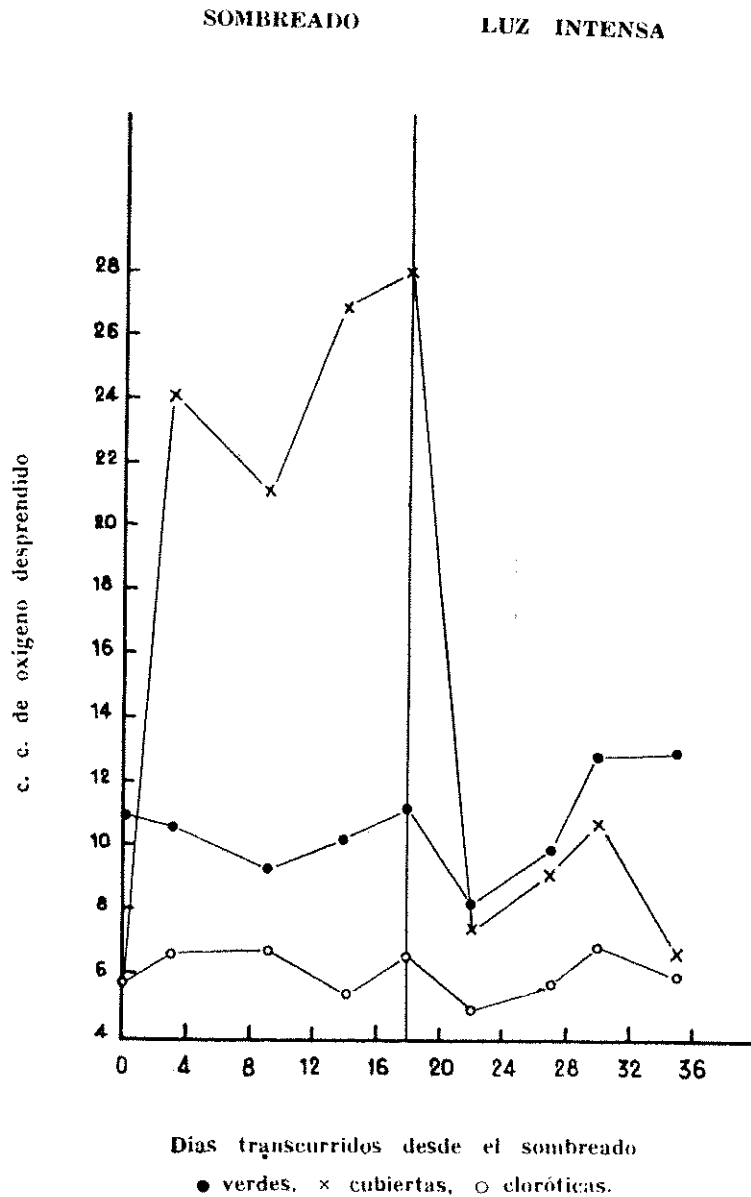


Fig. 9.—Peral: Calabaza Madame Bacheller.

Así pues, *la catalasa es más lábil a la luz intensa que la clorofila.*

Los valores obtenidos muestran también variaciones bastante bruscas de la actividad catalásica aún en las hojas verdes y cloróticas, lo que es explicable, ya que, como muestra LAVOREL (1956), basta el efecto de una iluminación momentánea durante las determinaciones, para que se observe la fotoinhibición de la catalasa.

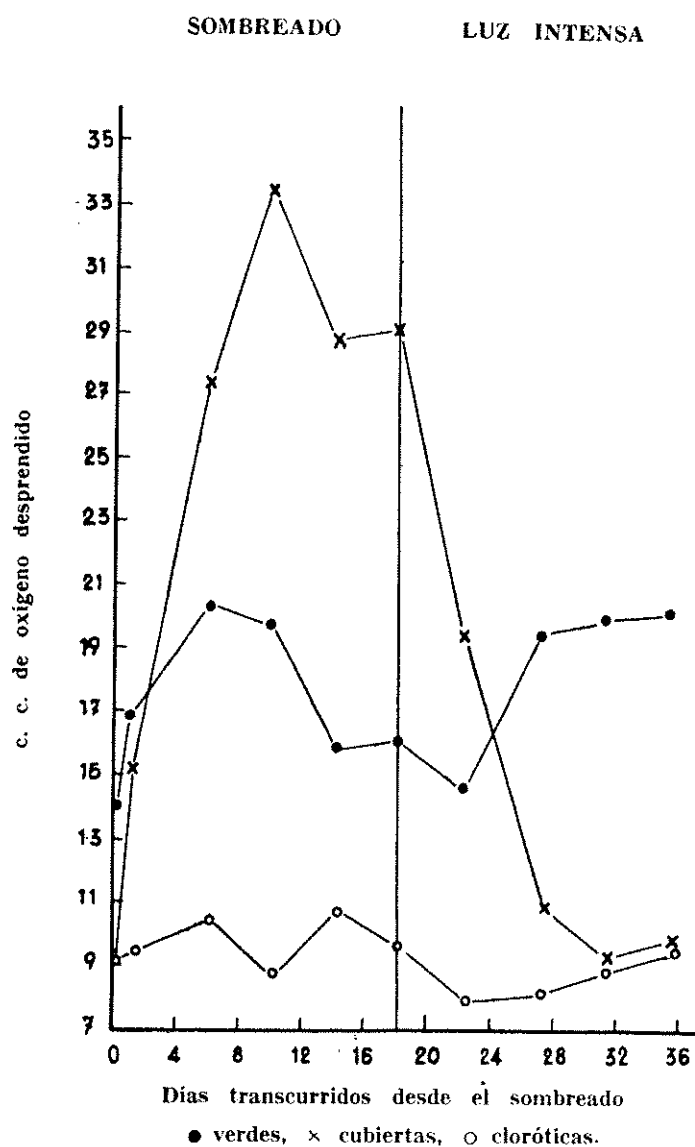


Fig. 10.—Cacahuete: Local (Zaragoza).

INFLUENCIA DE LA INTENSIDAD LUMINOSA SOBRE LA FORMACIÓN DE POLIFENOLES.

Como se ha indicado anteriormente (pág. 8), no hemos efectuado determinaciones analíticas de polifenoles debido al conocimiento limitado sobre las características y estado de los que se encuentran en las hojas de peral. Nos hemos limitado a efectuar la reacción de LINDNER *et al.* (1950), en hojas de peral, porque la reacción utilizada no es válida para plantas anuales, sino para árboles frutales de hoja caduca.

Esta reacción ha sido empleada por sus autores para investigar la presencia de virus en hojas de frutales, en cuyo caso tiene lugar

una acumulación de polifenoles en las zonas amarillas por influjo de la enfermedad. Cuando se trata de deficiencia de hierro, se ofrece el cuadro inverso: las zonas amarillas como consecuencia de la deficiencia, se presentan también deficientes en polifenoles (color rosa pálido), mientras que las áreas clorofílicas muestran una acumulación de los mismos en la luz (color pardo oscuro).

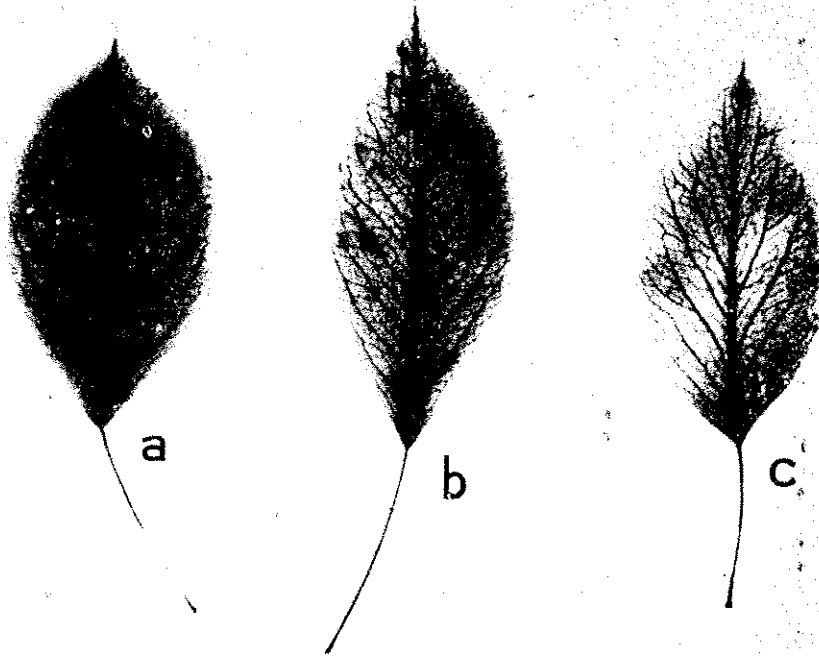


Fig. 11

La fig. 11 muestra tres hojas de peral, variedad Calabaza Madame Bacheller: a) verde; b) clorótica, y c) cubierta. Puede apreciarse un señalado contraste entre ellas, y se observa que en las hojas sometidas a la luz intensa, los polifenoles se hallan distribuidos uniformemente por toda la hoja, si esta es verde (a) y se acumulan en las venas cuando se trata de hojas cloróticas (b), en coincidencia con la distribución de la clorofila. Las hojas sometidas a luz débil (c), presentan una disminución acentuada de polifenoles que rebasa a la de las hojas cloróticas, a pesar del considerable aumento del contenido en clorofila experimentado por las mismas.

La fig. 12 muestra dos hojas cloróticas de la variedad de peral citada anteriormente en las que se ha efectuado la reacción de polifenoles después del tratamiento: d) tratada con inyección por incisión de Fe SO_4 (0'025 %), y e) tratada con inyección de ácido ascórbico (0'80 %). También en este caso los polifenoles se han acumulado

en las mismas zonas de distribución de la clorofila que, como puede apreciarse, abarca un área más extensa en el caso del hierro que en el del ácido ascórbico.

En la discusión se señala el papel que puede asignarse a los polifenoles en relación con la protección de la clorofila contra las radiaciones.

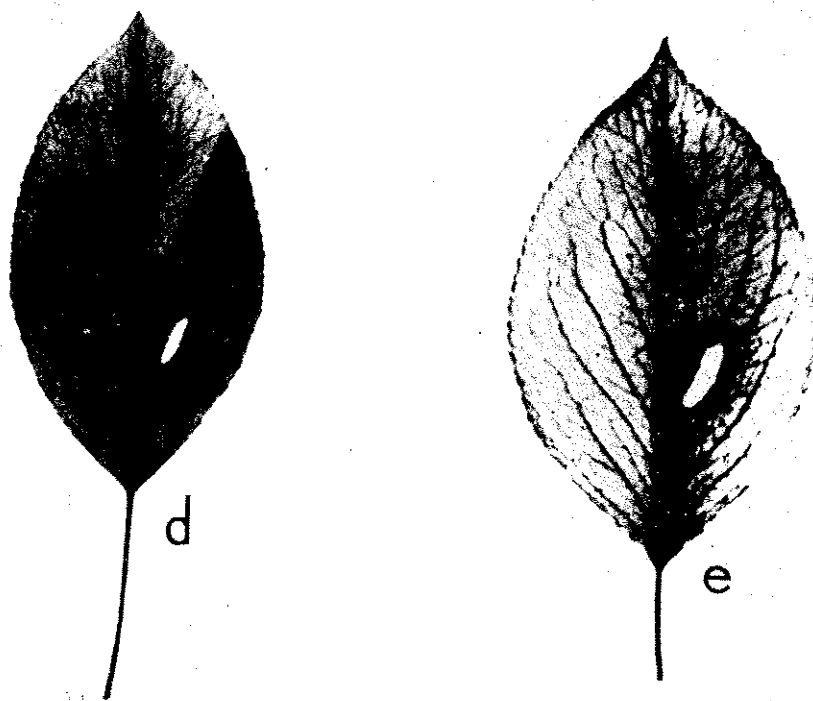


Fig. 12

VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE TANINO EN RELACIÓN CON LA INTENSIDAD DE LA LUZ.

Hemos efectuado una dosificación de taninos por su relación con los polifenoles, con objeto de hallar un índice de aquéllos.

Existen pocas referencias sobre las sustancias tánicas en relación con luz y deficiencia de hierro. LAURENT (1954), encuentra débil crecimiento y disminución del contenido de tanino, en plantas filicíneas puestas en la obscuridad, en un medio mineral; en medio glucosado, el contenido de tanino se conserva igual en la obscuridad o aumenta claramente. Esta misma autora (1952), encuentra que los taninos son particularmente abundantes en las zonas ricas en cloroplastos, de los helechos, para desaparecer casi totalmente en la región poco clorofiliana. Según WILSON (1955), los fertilizantes minerales tienen poco o ningún efecto sobre el contenido de tanino en las plantas.

CUADRO XXIII.—Variación del contenido de tanino con la intensidad de la luz
 Perales: *Mantecosa Mortillet y Calabaza Madame Bachelier*

Hojas	Valor inicial	Días transcurridos desde el sombreado								
		4	8	13	17	21	24	27	31	
Verdes	8'4	7'9	8'3	8'7	9'5	9'0	8'7	8'8	8'2	
Cubiertas	—	7'2	8'0	7'6	8'2	9'3	9'0	9'2	8'9	
Cloróticas	8'8	8'6	9'5	8'9	9'6	9'2	9'5	8'9	9'0	

Perales: *Passé Crassane y Beurré Le Brun*

Hojas	Valor inicial	Días transcurridos desde el sombreado								
		4	8	12	16	20	22	26	30	
Verdes	10'6	9'3	10'4	9'9	9'5	12'2	10'7	9'6	10'4	
Cubiertas	—	9'0	8'3	8'5	7'9	8'6	8'0	9'0	9'2	
Cloróticas	11'4	10'0	11'2	9'7	9'8	11'5	10'8	10'0	11'9	

Perales: *Mantecosa Bedford y Alexandrine Douillard*

Hojas	Valor inicial	Días transcurridos desde el sombreado								
		3	7	12	16	20	25	30	33	
Verdes	9'7	10'5	9'8	9'5	9'6	9'4	10'8	9'7	8'9	
Cubiertas	—	9'2	8'0	8'2	7'7	7'8	8'6	8'3	8'5	
Cloróticas	10'7	11'9	10'2	9'8	10'4	10'8	11'2	10'6	9'8	

Los valores están expresados en cc. de permanganato potásico y materia seca.

CUADRO XXIV.—Cacahuete: Local y Virginia jumbo. Variación del contenido de tanino con la intensidad de la luz

Variedad	Hojas	Días transcurridos desde el sombreado															
		2	4	6	9	11	13	16	18	2	4	7	9	11	14	16	18
Virginia	Verdes	6'7	6'5	5'7	5'8	6'1	5'6	5'6	6'3	5'5	5'8	5'5	4'6	5'6	--	5'5	6'2
Local	Cubiertas	5'6	5'7	5'8	5'3	5'5	5'7	6'0	5'9	7'1	6'7	6'4	5'9	5'4	5'0	6'3	5'8
Local	Cloróticas	9'7	8'6	7'6	6'4	6'8	7'7	8'3	7'4	8'3	8'0	8'2	6'8	--	5'4	6'7	7'0
Variedad	Hojas	Días transcurridos desde el sombreado															
		2	5	7	9	12	15	17	19	2	7	9	11	14	17	19	21
Virginia	Verdes	4'3	5'1	5'4	5'0	5'2	5'2	4'4	4'3	4'8	4'2	5'6	5'9	6'1	5'8	6'8	6'7
Local	Cubiertas	5'0	5'2	5'0	5'5	4'8	3'8	3'6	4'5	4'6	5'0	5'8	6'9	6'4	6'3	7'0	7'2
Local	Cloróticas	6'5	6'0	6'4	6'7	7'4	6'3	6'7	6'4	6'5	6'9	7'6	7'0	7'6	7'5	8'2	8'6

Los valores están expresados en cc. de permanganato potásico y materia seca.

El cuadro XXIII muestra el contenido de tanino en hojas de peral utilizando como material y fechas de sombreado y determinación los indicados para las experiencias expresadas en el cuadro XII (pág. 29), y el cuadro XXIV el contenido de tanino correspondiente al material y fechas expresadas en el cuadro XIV (pág. 38).

El contenido de tanino experimenta, en todos los casos un descenso cuando disminuye la intensidad de la luz. En ambas clases de material, el contenido de tanino es más elevado, en general, en las hojas cloróticas que en las verdes, aunque en el caso de los cacahuets las hojas verdes pertenecen a distinta variedad.

Parece, por consiguiente, que el contenido en tanino de las hojas está influido por la intensidad luminosa de manera que en luz débil disminuye su síntesis. De aquí se deduce que en luz débil los taninos tienen un curso paralelo con los polifenoles (pág. 58), pero no sucede lo mismo en luz intensa, en que, a diferencia de los polifenoles, aumenta el contenido de tanino en las hojas cloróticas.

V.—DISCUSION

ACCIÓN DE ALTAS INTENSIDADES DE LUZ.

La acentuación de los síntomas, por influencia de la intensidad luminosa, es uno de los puntos que requieren discusión en la interpretación de los fenómenos de clorosis calcárea.

El fenómeno de clorosis estudiado por nosotros, está caracterizado por la superposición de dos efectos: a) clorosis motivada por el elevado contenido de carbonato cálcico del suelo y alto pH del mismo, que inmoviliza el hierro en la planta (BUCHER Y WILLIAMS, 1936; HEWIT, 1948; ILJIN, 1952; BROWN, 1953; BROWN Y STEINBERG, 1953; REDISKE Y BIDDULPH, 1953; KOCK, 1955, y MC GEORGE Y BREAZEALE, 1956), y b) la destrucción de la clorofila por la luz intensa.

La participación de las dos causas en la disminución del contenido de clorofila es muy ostensible, pues tanto en hojas de perales como de cacahuets, la influencia de la clorosis calcárea sumada a la alta intensidad de luz recibida (media, 650 f. c. de luz reflejada), reducen el contenido de clorofila en un 50 %, aproximadamente, por término medio. Al disminuir la intensidad de la luz en un 98 %, se eleva el nivel de clorofila en un 60 %, aproximadamente por término medio, en un período de 4-5 días (cuadros IX, X y XI). En días subsiguientes las hojas sometidas a luz débil llegan a rebasar el contenido de clorofila de las hojas no cloróticas (que hemos llamado verdes), lo que hace suponer que también en éstas tiene lugar una fotodescomposición parcial de la clorofila, aunque se establece un equilibrio entre la formación y la destrucción de la misma (Roux, 1951).

Sin embargo, la naturaleza de la clorofila formada por reducción de la intensidad luminosa, difiere de la del sistema clorofílico formado por aporte de Fe SO_4 . Si exponemos a la luz plena hojas clo-

róticas en que se ha formado la clorofila por sombreado, tiene lugar la destrucción rápida de la clorofila, reduciéndose en un 18 %, por término medio, en 4-5 días, y llegando, en días posteriores, a valores incluso más bajos que los de las hojas cloróticas, en el mismo material anteriormente citado; en cambio, la clorofila sintetizada por influencia de Fe SO_4 , en luz natural intensa, permanece prácticamente constante (cuadros VI y VII y fig. 4), es decir, no es destruida en tanta cuantía, restableciéndose el equilibrio entre su formación y destrucción.

Por consiguiente, el sistema clorofílico formado en luz débil comparado con el que se forma en condiciones naturales (material verde) o por influencia del sulfato ferroso, es más lábil a las intensidades crecientes de luz.

El fenómeno de la descomposición, por la luz intensa, de la clorofila formada en luz débil está influenciado por la diferente composición de la clorofila formada en intensidades bajas y altas: la relación clorofila *b*/clorofila *a* es más alta en el caso de las hojas sombreadas que en el de las verdes y cloróticas, descendiendo en este orden (pág. 27). Ahora bien, de nuestras experiencias (cuadros IX, X y XI) se deduce, en armonía con EGGLE (1937), SEYBOLD y EGGLE (1937 y 1938), HARDER *et al.* (1938), y STRAIN (1949), que de las dos clorofilas estudiadas, la *b* se descompone por la luz en mayor proporción que la *a* y, por consiguiente, la clorofila formada en luz débil, que tiene más alta proporción de clorofila *b*, presentará mayor labilidad a la fotodescomposición.

El orden de destrucción de los pigmentos por la luz, para el material clorótico por deficiencia de hierro y sometido, en nuestro caso, a la influencia de los factores propios del ambiente —luz, régimen de vientos, composición del suelo— es:

clorófila *b* —————> clorófila *a* —————> xantofila —————> carotenoides
verde-amarill. verde-azu. amarill. anaranj.

El proceso señalado en este esquema ha sido comprobado analíticamente en las dos primeras etapas y, en cuanto a la xantofila y carotenoides, de acuerdo con los síntomas y observación visual, puesto que cuando se acentúan los síntomas de la deficiencia, las hojas toman sucesivamente los colores amarillo y naranja para pasar por último a pardo (necrosis).

En la descomposición de aquellos pigmentos es indudable que ha de influir el efecto de la diferente absorción de las radiaciones por los mismos; por consiguiente, la eficacia de la luz absorbida por la hoja para la descomposición, variará según el color (verde, amarillo, naranja) que va tomando la hoja a medida que se acentúan los síntomas de la deficiencia.

En consecuencia, puesto que una vez iniciada la descomposición de la clorofila la luz actúa sobre un soporte cada vez más amarillo, parece que la eficacia para la descomposición es mayor cuando las

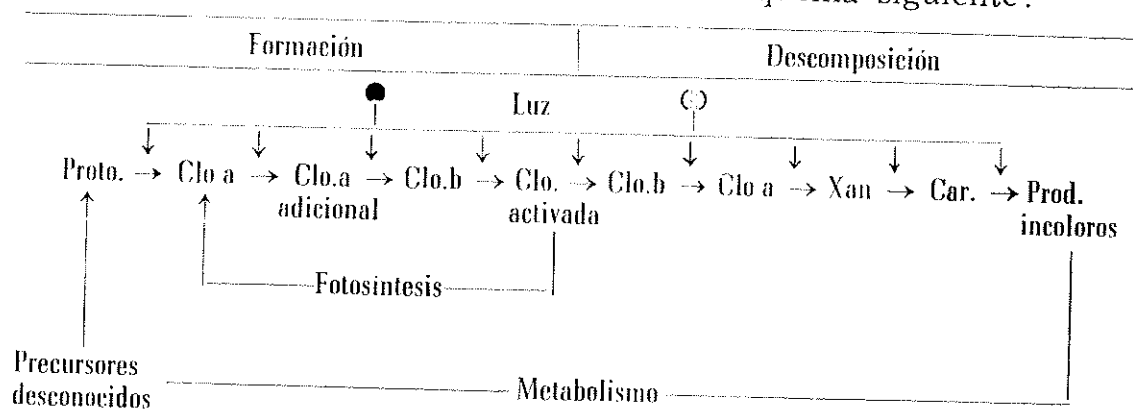
radiaciones son absorbidas por una hoja amarilla que cuando la hoja es verde.

En cuanto a la presencia más alta de los carotenoides en las hojas cloróticas, comprobada visualmente, no podemos afirmar que su contenido sea más alto en dichas hojas que en las verdes, sino que presentan menor labilidad a la fotodescomposición que la clorofila, en las plantas afectadas por la clorosis calcárea. Tampoco aseguramos que los carotenoides tengan su origen en los productos de descomposición de la clorofila, ya que de las dos vías que podemos imaginar para su síntesis:

- Vía directa \longrightarrow Síntesis independiente de los residuos de la clorofila.
 Vía indirecta \longrightarrow Síntesis a partir de fitol.

parece más probable la primera (FRANK, 1956).

Para las plantas deficientes con que hemos experimentado y teniendo en cuenta el esquema sobre la influencia de la luz de AACH (1954), y las experiencias de GOODWIN y OWENS (1947), SMITH (1948 y 1954), BLAAUW y JANSEN *et al.* (1950) KOSKI (1950), y VIRGIN (1956), podríamos representar en nuestro caso el esquema siguiente:



Proto. = Protoclorofila.

Clo. = Clorofila.

Xan. = Xantofila.

Car. = Carotenoides.

Prod. = Productos.

sin que sea seguro que los productos resultantes de la descomposición de los pigmentos, den origen a la protoclorofila.

Lo que podemos afirmar es que en las plantas cloróticas la razón de destrucción de la clorofila excede a la de formación, para las intensidades de luz propias del ambiente y el nivel de hierro correspondiente al material empleado (cuadros XVIII y XIX); esta descomposición se efectúa sin detrimento del mecanismo productor de clorofila, puesto que en cuanto reducimos la intensidad luminosa vuelve a funcionar dicho mecanismo, formando el pigmento, sin in-

terrupción de ninguna de las etapas señaladas en el esquema. Ahora bien, la luz actúa con distintas eficacias en cada una de esas etapas según su intensidad, y es interesante aclarar en cuál de ellas interviene la luz intensa para perturbar el mecanismo de formación o producir la descomposición de la clorofila. En hojas verdes y luz natural, aunque haya descomposición parcial de la clorofila, se mantiene un equilibrio en la relación de los dos pigmentos b/a , en nuestro caso de 0'38 aproximadamente (pág. 27); pero las plantas deficientes en hierro, mantenidas en luz natural intensa, sufren un desequilibrio que conduce a una descomposición desproporcionada de clorofila b (valor medio de b/a , 0'33) y que en el esquema anterior estaría representado en la etapa señalada (⊙), mientras que en baja intensidad de luz, tiene lugar una formación anormal de clorofila b (valor medio de b/a , 0'42), produciéndose el desequilibrio en la etapa señalada (●).

Parece, pues, que no están afectadas desfavorablemente por la luz intensa las etapas de formación de clorofila, sobre todo aquéllas en que interviene el hierro. En efecto, hemos visto (cuadros II y III) que por el simple hecho del sombreado se forma clorofila con mayor rapidez que por aporte de hierro, llegándose a rebasar los niveles correspondientes a las hojas verdes mantenidas en luz intensa (cuadros IX, X y XI); pero si la luz intensa actuase antes de sustituirse el hierro, no se podría formar la clorofila con tanta rapidez, porque al ser descompuestas las moléculas de los precursores quedarían frenadas las reacciones de formación de clorofila, con lo que tardaríamos en obtener este pigmento tanto tiempo como cuando aportamos hierro a las hojas. Por consiguiente, nosotros damos por supuesto que en las hojas cloróticas se forma clorofila a expensas de las porfirinas de hierro (GRANICK, 1951, y ABADÍA, 1956), que no son descompuestas por la luz, y que es a partir de la introducción del Mg en los anillos porfirínicos (clorofila formada) cuando la luz intensa destruye esta clorofila, de modo que tiene lugar en las hojas cloróticas una activa formación y destrucción de clorofila. En cambio, si protegemos la clorofila de la fotodescomposición por medio de un sombreado, quedará almacenada en la hoja la que se va formando a expensas de los precursores, que se encuentran intactos en la hoja clorótica con lo que obtenemos valores altos de clorofila.

En resumen: en estos casos de clorosis calcárea, la formación y descomposición de los pigmentos está condicionada por el factor luz; rebajado cierto nivel de intensidad, se produce la destrucción parcial de los mismos.

El hecho de que, en luz débil, se evite la destrucción de la clorofila no significa que se restablezcan las condiciones normales en el metabolismo de la hoja. Por el contrario, las hojas sometidas a bajas intensidades de luz experimentan, en relación con las expuestas a la luz natural intensa, además de un aumento en la relación clorofila b /clorofila a , una gran variación en el contenido y actividad de cier-

tas sustancias (hierro soluble, ácido ascórbico, actividad catalásica, polifenoles).

Es evidente, sin embargo, que en el material que hemos utilizado (plantas de peral y cacahuets) el aparato fotosintético es eficaz tanto en luz intensa como en débil, para aquellas reacciones fotosintéticas en que se requiere el concurso de la clorofila porque se dan todas las condiciones exigidas por KOSKI (1950), KOSKI *et al.* (1951) y SMITH (1954): se ha formado en ambos casos clorofila *a*, clorofila *a* adicional y clorofila *b*. Sin embargo en las hojas cloróticas el rendimiento fotosintético estará reducido, porque conteniendo menor cantidad de clorofila que las verdes, no será utilizada eficazmente la luz recibida, y en las hojas cubiertas —alto contenido de clorofila— también estará disminuida la capacidad fotosintética por la débil intensidad de luz recibida (factor limitante) y por la desigual participación en fotosíntesis de los pigmentos *a* y *b*. Según SEYBOLD (1941), HENDRICKS (1953) y SMITH (1954), la clorofila *b* parece incapaz de formar almidón, actuando sólo como sensibilizador, mientras que la clorofila *a* participa en la síntesis de los glúcidos; puesto que las hojas sombreadas presentan una relación *b/a* más alta que las verdes, es evidente que ha de repercutir en el rendimiento fotosintético. En favor de este argumento encontramos, además, la disminución que experimentan las hojas mantenidas en luz débil en el contenido de ácido ascórbico, polifenoles y tanino (cuadros XII, XIII, XIV, XV, XXIII y XXIV y pág. 58), cuyo origen glucídico ha sido sostenido por GUHA y GHOSH (1935), REID (1938), MOLDTMANN (1939), SMITH (1952), LAURENT (1953) ISHERWOOD *et al.* (1954), LOEWUS y JANG (1957) y SIVARAMA y SARMA (1957) así como las diferencias en los rasgos morfológicos: alargamiento de los peciolo y disminución de la sección transversal de los limbos (morfología de la hoja etiolada), a pesar del considerable aumento en el contenido de clorofila.

El aparato fotosintético de hojas cloróticas y sombreadas, por tanto, no trabaja en condiciones óptimas en ninguno de los dos casos; es indudable que existirá un valor óptimo de luz para el cual se establezca un equilibrio normal entre la formación y descomposición de la clorofila, y para el que esta clorofila actúe con máximo rendimiento.

Nosotros «ex profeso» hemos operado en condiciones extremas; hallar el óptimo de luz en los casos de clorosis calcáreas, puede ser motivo de estudios posteriores.

HIERRO

Las relaciones entre hierro y clorofila han sido extensamente estudiadas, como ya hemos señalado anteriormente (pág. 4). Son menos conocidas las variaciones de aquel elemento en función de la luz y los procesos de fotodescomposición de la clorofila que se

acentúan en los casos de clorosis calcárea, problema que abordamos nosotros.

Es indudable que tanto las hojas verdes como las tratadas con Fe SO_4 y cloróticas presentan un contenido en clorofila más bajo, por efecto de la fotodescomposición, que el que corresponde a la cantidad de hierro presente. Ahora bien, el hierro soluble experimenta un aumento en las hojas sometidas a luz débil (cuadros XVIII y XIX), indicando que existe un influjo de la luz sobre el estado del hierro en las plantas. En estas condiciones las cifras correspondientes de clorofila (cuadros XII y XIII) indican que al mismo tiempo se forma no sólo la cantidad de clorofila que potencialmente correspondería a la situación de deficiencia, sino que se rebasa ese nivel hasta sobrepasar el contenido de las hojas verdes, a pesar de ser frecuentes los niveles más altos de hierro soluble de estas últimas. Por consiguiente, el aumento de clorofila en las hojas cubiertas se deberá en parte a la no destrucción por la luz, y en parte parece lógico suponer debida a la influencia del hierro. Dos hechos pueden contribuir a aclarar este punto: 1.º) La clorofila formada en luz débil (hojas cubiertas) se destruye con más rapidez que la que se forma en luz natural —por influencia del Fe SO_4 o sin él— llegando en 16 días a valores incluso más bajos de clorofila que los de las hojas cloróticas (cuadros IX y XI). 2.º) En las hojas tratadas con Fe SO_4 y sometidas a luz débil, la clorofila formada se descompone en parte, cuando se exponen a luz intensa, hasta un nivel en que se mantiene prácticamente constante (cuadros VI y VII y fig. 1), lo que indica que se restablece el equilibrio entre la formación y la destrucción de la clorofila, después de haberse descompuesto la fracción correspondiente por exceso de luz.

Por otro lado la formación del sistema clorofílico en presencia de Fe SO_4 parece ser más rápida en luz intensa que en luz débil, mientras que en ausencia de Fe SO_4 la luz intensa favorece la descomposición del pigmento. Estos hechos y la diferencia de velocidad en la formación de clorofila por aporte de hierro y por reducción de intensidad de luz (cuadros II, III, IV y V), parecen mostrar que el hierro que introducimos en las hojas cloróticas, interviene en una serie de reacciones que dan como resultado la formación de clorofila estabilizada, mientras que el hierro que se encuentra en las mismas está en una etapa tal, que puede tomar parte inmediatamente en la síntesis de un sistema clorofílico no fotoestable.

Estas consideraciones nos inclinan a suponer que no son superponibles los cursos de formación de clorofila por descenso de la intensidad luminosa y por influencia del hierro.

Desconocemos el curso del Mg-clorofílico cuando se descompone la clorofila por la luz, pero los hechos ocurren como si quedasen fragmentos de la molécula de clorofila descompuesta (Mg-no clorofílico) en un estado en que ese elemento participase en la síntesis

de clorofila, cuando desciende la intensidad de la luz, por vía más directa que por influencia del hierro.

No hay que olvidar, sin embargo, que en luz débil se modifican algunos sistemas —clorofila *b*/clorofila *a*, ácido ascórbico, actividad catalásica, polifenoles, taninos—, el porte de la planta y la propia morfología de la hoja, conjunto de condiciones que pueden ser responsables de esa acentuada labilidad de la clorofila a la luz.

ACTIVIDAD CATALÁSICA

La estrecha relación entre clorofila y catalasa (NEISH, 1939) y el hecho de que ésta contenga hierro en su molécula, nos induce a estudiar también la influencia de la luz sobre este sistema enzimático.

Los datos referentes a la actividad catalásica (cuadros XX, XXI y XXII) muestran que cuando las hojas verdes y cloróticas se encuentran sometidas a las mismas condiciones de iluminación (luz natural intensa), la actividad catalásica es mayor en las hojas verdes que en las cloróticas. Pero cuando las hojas cloróticas se exponen a la luz débil, la actividad catalásica experimenta un aumento que llega a alcanzar en 4-5 días a 60-380 %, para incrementos correspondientes de clorofila de 22-100 %.

Si estas hojas, con alto contenido en catalasa y clorofila, se someten a la luz natural intensa, sufren, además de una reducción en el contenido de clorofila, una disminución de la actividad catalásica.

Parece, pues, que clorofila y catalasa tienen siempre cursos paralelos; sin embargo, APPLEMAN (1952) encuentra una aparente contradicción. Según este autor, cuando se colocan plantas de cebada en la oscuridad al mismo tiempo que se etiolan, experimentan un aumento de la actividad catalásica. Si después se someten a la acción de la luz, experimentan una reducción de la actividad catalásica, tanto si se bloquea la formación de clorofila (1° C), como si no se bloquea (25° C), aunque en mayor proporción en este último caso.

Nosotros explicamos claramente este fenómeno, suponiendo, como EYSTER (1950) que, en luz intensa, tiene lugar una *fotooxidación* de la catalasa: de acuerdo con EULER *et al.* (1931), NAKAMURA (1941), EYSTER (1950), GRANICK (1951), FINKLE y APPLEMAN (1953) y ABADÍA (1956), clorofila y catalasa tienen precursores comunes (porfirinas de hierro); la catalasa se forma en luz y oscuridad pero un aumento de luz (probablemente intensidades más bajas que las que producen la destrucción de clorofila) provoca la fotooxidación de la catalasa. La clorofila requiere el concurso de la luz para formarse, de modo que, cuando APPLEMAN coloca las plantas en la oscuridad, hay una acumulación insólita de catalasa por dos causas, que suman sus efectos: a) las porfirinas sólo se emplean en la síntesis de catalasa, al no haber formación de clorofila y b) no se destruye por fotooxidación la catalasa formada. Al llevar estas plantas de nuevo a la luz

si la temperatura no es suficiente para la formación de clorofila (1° C), disminuye la actividad catalásica en la proporción correspondiente a la fotooxidación, mientras que si la temperatura es suficiente para que se verifique una síntesis rápida de clorofila, (25° C), tiene lugar una mayor reducción de la actividad catalásica, como corresponde a la suma de los dos efectos: formación de clorofila, a expensas de catalasa o sus precursores, y fotooxidación.

En nuestro caso no sucede lo mismo; cuando nosotros sometemos las plantas cloróticas —con bajo contenido en clorofila y valor bajo de la actividad catalásica— a intensidad débil de luz, se registra un aumento de catalasa y clorofila, porque siendo dicha intensidad suficiente para la formación de clorofila, no produce la fotooxidación de la catalasa. Si estas hojas —con alto contenido en catalasa y clorofila— se dejan en luz natural intensa sufren una reducción en el contenido de clorofila y catalasa por fotodescomposición.

De estos razonamientos deducimos que clorofila y catalasa tienen un curso paralelo siempre y cuando la intensidad de la luz no exceda de los límites en que se presente una influencia desfavorable para una de ellas, por ejemplo, oscuridad, en cuyo caso tiene lugar un desequilibrio. Un exceso de luz no causa desequilibrio, porque actúa sobre esos dos compuestos en el mismo sentido: destrucción de ambos.

ACIDO ASCÓRBICO

El conocimiento de la función fisiológica del ácido ascórbico en la planta es muy limitado, a pesar de que ha sido objeto de numerosas y extensas investigaciones. Según NEISH (1939), se encuentra en los cloroplastos en una concentración que apenas difiere de la de la hoja total; GIROUD *et al.* (1934) y MOLDTMANN (1939) afirman, como ya hemos señalado, que aumenta con el contenido de clorofila y, a causa de su capacidad de oxidación reversible, algunos autores (BUKATSCH, 1939; SZENT-GYORGYI, 1937, y MOUSTAFA, 1955) coinciden en asignarle el papel de catalizador en fotosíntesis y respiración. Sin embargo, es difícil señalar el exacto papel que juega el ácido ascórbico en relación con la clorofila, en las plantas deficientes en hierro, sobre todo teniendo en cuenta que el ácido ascórbico «*in vitro*» acelera la fotodescomposición de la clorofila (pág. 46).

El análisis de nuestros datos (págs. 29 y 38) revela: 1.º) En luz débil, el ácido ascórbico experimenta una disminución en su contenido que llega a alcanzar en 4-5 días desde 18 a 50 %. 2.º) En luz intensa, las hojas verdes y cloróticas presentan, relativamente, pequeñas variaciones. 3.º) En los casos extremos de clorosis y senectud, el contenido de ácido ascórbico desciende para dar valores del orden de 5 mg/100 g. en las hojas que presentan manchas necróticas y valor 0 en las necróticas. 4.º) La relación ácido ascórbico/clorofila es siempre más alta en las hojas cloróticas que en las verdes (figs. 5, 6

y 7); en luz débil alcanza valores cada vez más bajos, sin llegar a anularse. 5.º) Un aporte de ácido ascórbico al 0'80 % (inyección por incisión, página 59) produce un aumento del contenido de clorofila en la zona de difusión, con más lentitud y en menor extensión que en el caso del aporte de hierro (Fe SO_4 al 0'025 %).

En primer lugar, comprobamos que la luz tiene un papel preponderante en la síntesis del ácido ascórbico; el hecho de que descienda su contenido en luz débil revela, además, que existe una desproporción entre su síntesis y su utilización en dichas condiciones, con respecto a la luz intensa. Su rápida desaparición en luz débil podría atribuirse a un aumento de la actividad de la ácido ascórbicooxidasa, como ocurre con la actividad catalásica, pero falta la comprobación.

De las conclusiones 1.ª, 2.ª y 4.ª se deduce que no existe una relación directa entre clorofila y ácido ascórbico; para el material y condiciones en que hemos operado, nuestros resultados no están en armonía con los obtenidos en diferentes plantas por GIROUD *et al.* (1934) y MOLDTMANN (1939), de manera que no podemos afirmar que el ácido ascórbico tenga parte activa y directa en la síntesis o descomposición de la clorofila.

El aporte de ácido ascórbico a las hojas (conclusión 5.ª), muestra un hecho sorprendente: hojas cloróticas, con un elevado contenido de ácido ascórbico, a veces más alto que las verdes. (cuadro XII), experimentan un enverdecimiento cuando se tratan con ácido ascórbico. Atribuimos este resultado a que el ácido ascórbico actúa en reacciones destinadas a restablecer los niveles normales de algunas sustancias que intervienen en la protección de la clorofila, entre las que podrían encontrarse los polifenoles (pág. 54), cuya velocidad de oxidación es inferior a la del ácido ascórbico (URION *et al.*, 1956), y a que el ácido ascórbico es, además, un agente acidificante (pH 3'06 de la solución empleada al 0'80 %). Nosotros no hemos efectuado determinaciones de pH en las hojas cloróticas, pero CAIN (1954) ha comprobado que el pH de las hojas cloróticas de grosellero es más alto que el de las verdes, encontrando valores que oscilan entre 5'3 (hojas intensamente cloróticas) y 3'3 (hojas verdes); éste mismo autor afirma que las hojas cloróticas presentan un contenido más alto de cationes alcalinos que las verdes, de modo que parte del ácido se encontrará en aquellas hojas en forma de ascorbato, cuya oxidabilidad es inferior a la del ácido ascórbico. Suponemos, por consiguiente, que para que el ácido ascórbico proteja a los polifenoles de la oxidación se precisa un pH determinado en las hojas, que puede alcanzarse por aporte del propio ácido ascórbico, el cual ejerce, por tanto, en este caso, una doble función.

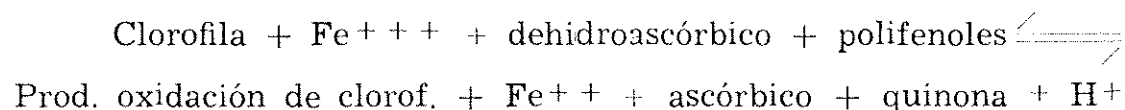
En apoyo de esta hipótesis tenemos el hecho de la formación de clorofila por aporte de ácido sulfúrico (pH = 2'25) a las hojas cloróticas (pág. 44), en cuyo caso la reacción es más rápida y extensa que por aporte de ácido ascórbico.

POLIFENOLES

De nuestras experiencias (págs. 57 y 58) se deduce que las hojas verdes presentan un contenido más elevado de polifenoles que las cloróticas. En hojas sometidas a baja intensidad de luz, que en nuestro caso presentan alto contenido de clorofila no fotoestable, la reacción utilizada acusa un contenido más bajo de polifenoles que el de las expuestas a luz intensa (fig. 11) lo que coincide con los resultados de HILLIS y SWAIN (1957) en hojas de ciruelo; esto indica que son productos dependientes de clorofila y luz.

Por otra parte, un aporte de ácido ascórbico o Fe SO_4 a las hojas cloróticas tiene como consecuencia, además de un aumento de clorofila, una formación de polifenoles en la zona de difusión de los reactivos empleados (fig. 12) y la clorofila formada queda reforzada de tal manera que para las mismas condiciones de luz, no se destruye.

Por consiguiente, los sistemas clorofila, hierro y ascórbico-dehidroascórbico, en las condiciones en que se encuentran en las hojas verdes, tienen un curso paralelo con un aumento en el contenido de polifenoles, en relación con las hojas cloróticas. Teniendo en cuenta los trabajos de KRASNOVSKII (1942) y LEGRAND (1956) y los resultados de nuestras experiencias, suponemos que en las hojas se establece el equilibrio siguiente:



que en los casos de clorosis calcárea se desplaza hacia el segundo miembro, con disminución de clorofila hierro soluble y polifenoles, mientras que por adición de Fe SO_4 , ácido ascórbico o H^+ ($\text{H}_2 \text{SO}_4$) se registra un aumento de aquellos sistemas.

Una disminución de la intensidad luminosa actúa en el mismo sentido en cuanto a la clorofila, que la adición de reductores del tipo Fe^{++} y ácido ascórbico, es decir, desplazando las acciones peroxidásicas, con lo que la clorofila no se descompone y la hoja se muestra verde, pero sin formación de polifenoles.

Estas consideraciones nos inclinan a suponer que el ácido ascórbico impide la oxidación de los polifenoles (MEHLER, 1951; GERO, 1955, y LIEBERMAN y BIALE, 1956) y éstos inhiben la fotooxidación de la clorofila, de tal manera que, cuando se forma clorofila en luz débil, sin formación simultánea de polifenoles, esa clorofila se descompone con rapidez por la luz intensa, en tanto que si se forma en condiciones normales o por influencia de Fe SO_4 , ácido ascórbico o $\text{H}_2 \text{SO}_4$, en que se sintetizan también los polifenoles, esa clorofila es estable a la luz intensa. En favor de esta hipótesis encontramos el hecho de que, cuando desciende considerablemente el contenido de ácido ascórbico, en la senectud, se presenta rápidamente la necrosis

en las hojas por oxidación, según nuestro criterio, de los polifenoles a quinonas.

Sin embargo, estas hipótesis deberán adoptarse con alguna reserva, hasta que puedan ser confirmadas en estudios posteriores.

TANINOS

Los resultados obtenidos (cuadros XXIII y XXIV) muestran una disminución del contenido de taninos en luz débil como corresponde, según nuestro criterio, al bajo contenido de polifenoles (pág. 58) y a la disminución de la actividad fotosintética (pág. 66). Estos resultados coinciden con los obtenidos por LAURENT ¹⁾, para cultivos de Filicíneas en oscuridad.

En cuanto a las hojas mantenidas en luz intensa, los valores correspondientes a las hojas cloróticas son, en general, más elevados que los de las verdes. Este resultado parece en desacuerdo con los obtenidos para polifenoles pero podría explicarse si admitimos como LAURENT (1952, 1953 y 1954 ²⁾) que el tanino tiene origen glucídico y, siendo el contenido de hidratos de carbono más elevado en las hojas cloróticas que en las verdes (ILJIN, 1951, y SIDERIS y YOUNG, 1956), es posible su acumulación en aquéllas en forma de materiales inertes, de desecho o de reserva (LAURENT, 1954 ¹⁾ y 1954 ²⁾).

Por otra parte, se ha mostrado (WILLIAMS, 1952) que el método del permanganato para la dosificación de taninos, es específico para orto-(catecol) y para-(quinol) polifenoles y además desconocemos si los fenoles combinados con la glucosa (taninos) son capaces de reaccionar con arreglo a la técnica de LINDNER *et al.* (1950) todo lo cual constituye una limitación que podría explicar la causa de las diferencias entre polifenoles y taninos, halladas en nuestras experiencias.

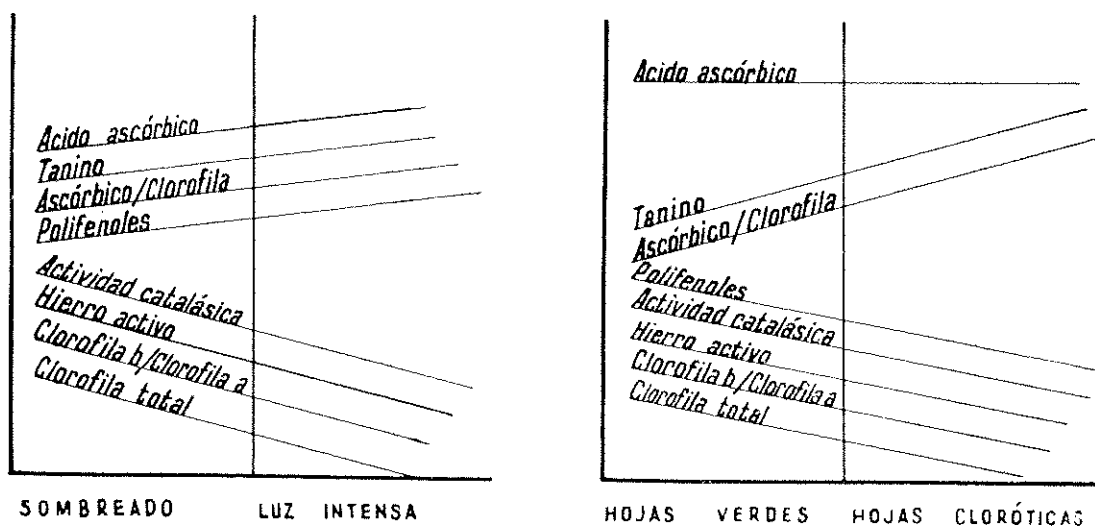


Fig. 13

VI.—RESUMEN

La descomposición de la clorofila por la luz, en las plantas cloróticas por deficiencia inducida de hierro, parece ser debida a una fotooxidación. La clorofila *b* (forma más oxidada) presenta mayor labilidad a la luz que la clorofila *a*. Por este motivo, la relación clorofila *b*/clorofila *a*, es más alta en el caso de las hojas sometidas a luz débil que en las expuestas a luz natural intensa.

Las variaciones en los sistemas estudiados, en función de clorofila y luz, pueden resumirse en los esquemas de la fig. 13. La tendencia de las variaciones de aquellos sistemas en las hojas verdes puede equipararse, en general, con la de las hojas sometidas a luz débil; hacen excepción los contenidos de polifenoles y los de ácido ascórbico.

El llamado hierro «activo» (extractable con HCl 1N.) experimenta una movilización en las hojas cloróticas, cuando disminuye la intensidad luminosa.

La actividad catalásica está fuertemente influenciada por alta intensidad de luz, que acelera la fotooxidación de la catalasa. La catalasa es más lábil a la luz intensa que la clorofila.

El ácido ascórbico, polifenoles y taninos son productos que requieren para su síntesis el concurso de la luz. Parece que la clorosis calcárea induce un aumento del pH de las hojas y crea las condiciones aparentes para que se descomponga la clorofila por la luz intensa ya que, en estas condiciones, el ácido ascórbico no inhibe la oxidación de los polifenoles que, según nuestro criterio, protegen a la clorofila de la fotooxidación.

VII.—CONCLUSIONES

- 1) Intensidades altas de luz acentúan la descomposición de la clorofila, en las plantas deficientes en hierro. La fracción de clorofila *b* es más susceptible a la fotodescomposición que la clorofila *a*.
La relación clorofila *b*/clorofila *a*, es más baja en las hojas cloróticas que en las verdes. En intensidad de luz débil, esta relación aumenta al aumentar el contenido de clorofila.
- 2) Un descenso de la intensidad luminosa disminuye los síntomas de la clorosis por deficiencia inducida de hierro más rápidamente que por aporte de Fe SO₄ (0'025 %). aumenta el contenido en hierro soluble y la actividad catalásica.
- 3) La relación ácido ascórbico/clorofila es más alta en las hojas cloróticas que en las verdes, relación que desciende cuando disminuye la intensidad de la luz. El ácido ascórbico no evita la descomposición de la clorofila por la luz solar intensa.

- 4) En presencia de clorofila y luz intensa se verifica una acumulación de polifenoles. que pudiera estar relacionada con la protección del sistema clorofílico.

SUMMARY

In mature leaves of chlorotic plants (pear-trees, peanuts) which are grown in calcareous soils, the high intensity of light increases the photodescomposition of chlorophyll.

The relation between chlorophyll *a* and chlorophyll *b* is higher in leaves subjected to weak light than in those exposed to natural intense light, due to the greater photolability of chlorophyll *b*.

Under induced iron deficiency, chlorotic symptoms disappear more rapidly by decreasing the intensity of light than by injecting Fe SO₄ (0.025 %). In both cases the soluble iron content and the catalase activity increase.

The relation between ascorbic acid and chlorophyll, which is higher in chlorotic leaves than in green ones, descends when the intensity of light decreases. Ascorbic acid does not avoid the decomposition of the chlorophyll by the intense sunlight, a rôle which could be played by the polyphenols.

VIII.—REFERENCIAS

- AACH, H. G.
1954 Über einige Ähnlichkeiten der Lichtwirkung auf grüne Pflanzen und auf das tierische Auge.— *Zeits. für Naturfors.*, **9b**: 481-486.
- ABADIA, A.
1956 La formación de clorofila en casos de deficiencia inducida de hierro.— *An. Est. Exp. Aula Dei*, **4**: 212-261.
- ABERG, B.
1949 Changes in the ascorbic acid content of darkened leaves as influenced by temperature, sucrose application and severing from the plant.— *Physiol. Planterum*, **2**: 164-183.
- AMBRIDGE, G.
1941 Hunger signs in crops. A Symposium.—The American Society of Agronomy and The National Fertilizers Association, Washington.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS
1950 Official methods of analysis, 7 ed.: 112. Washington.
- APPLEMAN, D.
1952 Catalase-chlorophyll relationship in barley seedlings.—*Plant Physiol.*, **27**: 613-621.
- ARONOFF, S.
1950 Chlorophyll.—*The Bot. Rev.*, **16**: 525-588.
- ARONOFF, S., and MACKINNEY, G.
1943 The photooxidation of chlorophyll.—*Jour. Amer. Chem. Soc.*, **65**: 956-958.
En: ARONOFF, S. (1950).

- BEHRENS, W. U.
1952 Der Einfluss der Phosphorsäure auf den Stoffumsatz junger Haferpflanzen.—Ztschr. Pflanzenern., **56**: 80-90.
- BENNET, J. P.
1945 Iron in leaves.—Soil Sci., **60**: 91-105.
- BLAAUW-JANSEN, G., KOMEN, J. G., and THOMAS, J. B.
1950 On the relation between the formation of assimilatory pigments and the rate of photosynthesis in etiolated oat seedlings.—Bioch. et Bioph. Acta, **5**: 179-185.
- BROWN, G. B.
1955 The ascorbic acid content of tomatoes as related to illumination.—Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., **65**: 342-348.
- BROWN, J. C.
1953 The effect of the dominance of a metabolic system requiring iron or copper on the development of lime-induced chlorosis.—Plant Physiol., **28**: 495-502.
- BROWN, J. C., and HENDRICKS, S. B.
1952 Enzymatic activities as indication of copper and iron deficiencies in plants.—Plant Physiol., **27**: 651-660.
- BROWN, J. C., and STEINBERG, R. A.
1953 Iron and copper enzymes in leaf lamina of tobacco when deficient in micronutrients or grown on calcareous and organic soils.—Plant Physiol., **28**: 488-494.
- BUCHER, T. F., and WILLIAMS, J. A.
1936 The hydrolysis of calcium carbonate and its relation to the alkalinity of calcareous soils.—Arizona Agr. Exp. Sta. Tech., Bull. **64**.
- BUKATSCH, F.
1939 Über die Rolle der Ascorbinsäure in den Chloroplasten.—Planta, **30**: 118.
- CAIN, J. C.
1954 Blueberry chlorosis in relation to leaf pH and mineral composition.—Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., **64**: 61-70.
- CARPENI - SISLEY
1929 En: Michel-Durand, E. (1928 y 1929).
- COOKE, A. R.
1953 Effect of gamma irradiation on the ascorbic acid content of green plants.—Science, **117**: 588-589.
- DROUINEAU, G., et GOUNY, P.
1946 Contribution à l'étude de la catalase des tissus foliaires.—Ann. Agr., **16**: 34-50.
- EGLE, K.
1937 Planta, **26**: 254. En: Rabinowitch, E. I., chap. 15: 422 (1945).
1944 Untersuchungen über die Resistenz der Plastidenfarbstoffe.—Bot. Archiv., **44**: 93-148. En: Wolf, F. T. (1956).
- EULER, H., GARD, U., und RISLUND, G.
1931 Katalase und Zuckerbestimmungen in chlorophylldefekten Pflanzen.—Zeits. Psysiol. Chem., **203**: 165.
- EYSTER, H. C.
1950 Catalase activity in chloroplast pigment deficient types of corn.—Plant Physiol., **25**: 630-638.
- FINKLE, B. J., and APPLEMAN, D.
1953 The effect of magnesium concentration on chlorophyll and catalase development in Chlorella.—Plant Physiol., **28**: 652-663.
- FRANK, S.
1956 Carotenoids.—Scient. Amer., **194**: 80-86.
- GERICKE, W. F.
1925 Botan. Gaz., **79**: 106-108. En: Mulder, E. G., and Gerretsen, F. C.—Soil manganese in relation to plant growth.—Adv. in Agr., **4**: 221-227, (1952).

- GERO, E.
1955 Sur les anticatalyseurs de l'oxydation de l'acide L-ascorbique. Action protectrice mutuelle entre la vitamine C et les orthodiphénols.—*Compt. Rend. Acad. Sc.*, **240**: 1818-1821.
- GIROUD, A., RATSIMAMANGA, A. R., et LEBLOND, C. P.
1934 *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **117**: 612. En: Rabinowitch, E. I., chap. 10, (1945).
- GOODWIN, R. H., and OWENS, O. H.
1947 The formation of chlorophyll *a* in etiolated oat seedlings.—*Plant Physiol.*, **22**: 197-200.
- GRANICK, S.
1951 Biosynthesis of chlorophyll and related pigments.—*Ann. Rev. Plant Physiol.*, **2**: 115-145.
- GUHA, B. C., and GHOSH, A. R.
1935 Biological formation of ascorbic acid.—*Nature*, **135**: 234.
- GYÖRGY, P.
1942 Water soluble vitamins.—*Ann. Rev. Biochem.*, **11**: 309-364.
- HAMDALLAH, Abu EL WAFI.
1939 Vitamin C-Gehalt Eisen- bzw. Magnesium-frei gezogener Pflanzen.—*Protoplasma*, **32**: 31-43.
- HARDER, R., SIMONIS, W., and BODE, O.
1938 *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen*, **6**: 135. En: Rabinowitch, E. I., chap. 15 (1945).
- HENDRICKS, S. B.
1953 A discussion of photosynthesis.—*Science*, **117**: 370-373.
- HEWIT, E. J.
1948 Relation to manganese and some other metals to the iron status of plants.—*Nature*, **161**: 489-490.
- HILLIS, W. E., and SWAIN, T.
1957 Influence of illumination on the synthesis of leuco-antocyanins in leaves.—*Nature*, **179**: 586-587.
- HIVON, K. J., DOTY, D. M., and QUACKENBUSH, F. W.
1951 Ascorbic acid and ascorbic acid oxidizing enzymes of green bean plants deficient in manganese.—*Plant Physiol.*, **26**: 832-835.
- ILJIN, W. S.
1951 Metabolism of plants affected with lime-induced chlorosis. II: Organic acids and carbohydrates.—*Plant and Soil*, **3**: 339-351.
1952 Metabolism of plants affected with lime-induced chlorosis (calciose). III: Mineral elements.—*Plant and Soil*, **4**: 11-28.
- ISHERWOOD, F. A., CHEN, Y. T., and MAPSON, L. W.
1954 Synthesis of L-ascorbic acid in plants and animals.—*Biochem. Jour.*, **56**: 1-15.
- JACOBSON, L.
1945 Iron in the leaves and chloroplasts of some plants in relation to their chlorophyll content.—*Plant Physiol.*, **20**: 233-245.
- KARIKKA, K. J., DUDGEON, L. T., and HAUCK, H. M.
1944 Influence of variety, location, fertilizer and storage on the ascorbic acid content of potatoes grown in New York State.—*Jour. Agr. Res.*, **68**: 49-63.
- KITCHEN, H. B.
1949 Diagnostic techniques for soils and crops.—*The American Potash Institute*. Washington.
- KOCK, F. C.
1955 Iron nutrition of plants at high pH.—*Soil Sci.*, **79**: 167-175.
- KOLESNIKOV, P. A.
1950 *Compt. Rend. Acad. Sci. U. R. S. S.*, **71**: 1085. En: Wood, J. G. Nitrogen metabolism of higher plants.—*Ann. Rev. Plant Physiol.*, **4**: 1-22 (1953).

- KOSKI, V. M.
1950 Chlorophyll formation in seedlings of *Zea Mays* L.—Arch. Biochem., **29**: 339-343.
- KOSKI, V. M., FRENCH, C. S., and SMITH, J. H. C.
1951 The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll *a* in normal and albino corn seedlings.—Arch. Biochem. Biophys., **31**: 1-17.
- KRASNOVSKII, A. A.
1948¹ Doklady Akad. Nauk. S. S. S. R., **60**: 421-424. En: Aronoff, S. (1950).
1948² Doklady Akad. Nauk. S. S. S. R. **61**: 91-94. En: Aronoff, S. (1950).
- KRASNOVSKII, A. A., BRIN, G. P., and VOJNOVSKAJA, K. K.
1949 Compt. Rend. Acad. Sci. U. R. S. S., **69**, 393. En: RABINOWITCH, E. I. Photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol., **3**: 229 (1952.)
- LAURENT, S.
1952 Recherches sur les constituants paraplasmiques des prothalles de Filicinées.—Rev. Gen. Bot., **59**: 265-299.
1953 Influence de la nutrition glucosée sur la formation de tanin dans les prothalles de Filicinées.—Compt. Rend. Acad. Sci., **236**: 2.428-2.430.
1954¹ Réutilisation du tanin dans des prothalles de Filicinées maintenus en inanition.—Compt. Rend. Acad. Sci., **239**: 443-444.
1954² Comparaison des courbes de croissance et de concentration en tanin chez des prothalles de Filicinées cultivés dans des milieux diversement additionnés de glucose.—Compt. Rend. Acad. Sci., **239**: 1.522-1.524.
- LAVOREL, J.
1954 Influence de la lumière sur l'activité catalasique des suspensions de chloroplastes.—Compt. Rend. Acad. Sci., **238**: 1.074-1.076.
1956 Photo-inhibition de la catalase des chloroplastes.—Ann. Inst. Nat. Rech. Agr., serie A, **1**: 63-113.
- LECAT, P.
1951 Répartition et variations du système ascorbique chez les végétaux.—Plant and Soil, **3**: 267-308.
- LEGRAND, G.
1956 Sur l'oxidation enzymatique de l'acide ascorbique par *Agaricus campestris*.—Bull. Soc. Chim. Biol., **38**: 1.025-1.035.
- LIEBERMAN, M., and BIALE, J. B.
1956 Oxidative phosphorylation by sweet potato mitochondria and its inhibition by polyphenols.—Plant Physiol. **31**: 420-424.
- LINDNER, R. C., KIRKPATRICK, H., and WEECKS, T. E.
1950 A simple staining technique for detecting virus disease in some woody plants.—Science, **112**: 119.
- LOEWUS, F. A., and JANG, R.
1957 Further studies on the formation of ascorbic acid in plants.—Biochim. Biophys. Acta, **23**: 205-206.
- LYON, C. B., BEESON, K. C., and ELLIS, G. H.
1943 Effects of micronutrient deficiencies on growth and vitamin content of the tomato.—Bot. Gaz., **104**: 495-514.
- LYONS, M. E., and FELLERS, C. R.
1939 Potatoes as carriers of vitamin C.—Amer. Potato Jour., **16**: 169-179. En Hammer, K. C. Minor elements and vitamins in plants.—Soil Sci., **60**: 165-171 (1945).
- MAC INTOSH, I.
1938 Exp. Sta. Bull., **391**: 320. En: Lecat, P. (1951).
- MAPSON, L. W., and CRUICKSHANK, E. M.
1947 Effect of various salts on the synthesis of ascorbic acid and carotene in cress seedlings.—Biochem. Jour., **41**: 197-205.
- MASON, A. C.
1950 The estimation of iron in plant material.—Rep. E. Malling Res. Sta., **124**-126.

- MC GEORGE, W. T.
1926 Pahala blight and a comparison with other forms of sugar cane chlorosis.—*Hawaiian Planter Record*, **30**: 293-328. En: Mc. George, W. T., and Breazeale E. L. (1956).
- MC GEORGE, W. T., and BREAZEALE, E. L.
1956 Application of the Neubauer technique and applied potential to the study of immobilization of iron in plants.—*Soil Sci.*, **82**: 329-336.
- MEHLER, A. H.
1951 Studies on reactions of illuminated chloroplasts. II. Stimulation and inhibition of the reaction with molecular oxygen.—*Arch. Biochem. Biophys.*, **34**: 339-351.
- MICHEL-DURAND, E.
1928 The influence of an alcohol treatment on the extraction of tannin from y vegetables.—*Rev. Gen. Bot.*, **40 y 41**.
1929
- MOLDTMANN, H. G.
1939 Untersuchungen über den Ascorbinsäuregehalt der Pflanzen in seiner Abhängigkeit von inneren und ausseren Faktoren.—*Planta*, **30**: 297-342.
- MORELL, S. A.
1941 Rapid photometric determination of ascorbid acid in plant materials.—*Ind. Eng. Chem.*, **13**: 793-794.
- MOUSTAFA, E. M.
1955 Intracellular localization of enzymes oxidizing and reducing ascorbic acid and glutathions in pea seedlings.—*Alexandria Jour. Agr. Res.*, **3**: 61-68.
- MYERS, J.
1940 A study of the pigments produced in darkness by certain green algae.—*Plant Physiol.*, **15**: 575-588.
- NAGEL, W.
1940 Über die Blattfarbs'offe des Tabaks.—*Bot. Archiv.*, **40**: 1-57. En: Wolf, F. T. (1956).
- NAKAMURA, V. H.
1941 The quantitative relationship between the catalase in chloroplasts and some observations on the role of catalase in assimilation.—*Japan Jour. Bot.*, **11**: 221-236.
- NEISH, A. C.
1939 Studies on chloroplasts. II.—Their chemical composition and the distribution of certain metabolites between the chloroplasts and the remainder of the leaf.—*Biochem. Jour.*, **33**: 300-308.
- OSERKOVSKY, J.
1932 Hydrogen-ion concentration and iron content of tracheal sap from green and chlorotic pear trees.—*Plant Physiol.*, **7**: 253-259.
1933 Quantitative relation between chlorophyll and iron in green and chlorotic pear leaves.—*Plant Physiol.*, **8**: 449-468.
- PIPER, C. S.
1950 Soil and plant analysis.—The Waite Agric. Res. Inst. Adelaide.
- RABINOWITCH, E. I.
1945 Photosynthesis and related processes. I. Interscience publishers, Inc. New York.
- RACKSHIT, F. C.
1938 *Biochen. Z.*, **297**: 153. En: RABINOWITCH, E. I. chap. 10 (1945).
- RAGGIO, N. M., y RAGGIO, M.
1953 Pigmentos y actividad catalásica en frutos de mandarina durante la maduración, en iluminación natural y oscuridad. *FITON*, **3**: 23-34.
- RANDOIN, L., and LE GALLIC, P.
1942 Existence of correlations between the protein, iron and vitamin contents of plant tissues.—*Bull. Soc. Chim. Biol.*, **22**: 593-602.

- REDISKE, J. H., and BIDDULPH, O.
1953 The absorption and translocation of iron.—*Plant Physiol.*, **28**: 594-606.
- REID, M. E.
1938 The effect of light on the accumulation of ascorbic acid in young cowpea plants.—*Amer. Jour. Bot.*, **25**: 701-711.
- ROACH, W. A.
1939 Plant injection as a physiological method.—*Ann. Bot. N. S.*, **3**: 155-226.
- ROACH, W. A., and ROBERTS, W. O.
1945 Further work on plant injection for diagnostic and curative purposes.—*Jour. Pomol. Hort. Sci.*, **21**: 108-119.
- ROBINSON, W. B.
1949 The effect of sunlight on the ascorbic acid content of the strawberries.—*Jour. Agr. Res.*, **78**: 257-262.
- RODRIGUEZ, C., y DIEZ-ALTARES, M. C.
1955 Chlorose dans les cultures des zones semi-arides: influence du sol et de la lumière.—*Plant Ecology. Proc. of the Montpellier Symposium. Ecologie végétal.* U. N. E. S. C. O., 89-91.
- ROUX, E.
1951 Sur le comportement de la chlorophylle dans la photosynthèse.—*Compt. Rend. Acad. Sci.*, **232**: 1865-1866.
- RUDOLPH, H.
1934 Über die Einwirkung des farbigen Lichtes auf die Entstehung der Chloroplastenfarbstoffe.—*Planta*, **21**: 104-155 (1956).
- SAGROMSKY, H.
1956 Zur chlorophyllbildung bei Aureaformen I.—*Zeits. Naturf.*, **11**: 548-554.
- SEYBOLD, A.
1941 *Botan. Arch.*, **42**: 254. En: Rabinowitch, E. I. chap. 15 (1945).
1943 Zur Kenntnis der herbstlichen Laubblattfärbung.—*Botan. Arch.*, **44**: 551-568. En: Wolf, F. T. (1956).
- SEYBOLD, A., and EGGLE, K.
1937 *Planta*, **26**: 491. En: Rabinowitch, E. I. chap. 15 (1945).
1938¹ *Jahrb. Wiss. Botan.*, **86**: 50. En: Rabinowitch, E. I. chap. 15 (1945).
1938² *Planta*, **28**: 87. En: Rabinowitch, E. I. chap. 15 (1945).
- SCHENK, G. O., and ZIEGLER, K.
1945 The synthesis of ascaridole.—*Naturwiss.*, **32**: 157.
- SCHENK, W.
1952 Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Lichtfeld und Chlorophyllgehalt an Sprossrinden und Blättern von Holzgewächsen.—*Planta*, **41**: 290-310.
- SIDERIS, C. F., and YOUNG, H. Y.
1944 Effects of iron on chlorophyllous pigments, ascorbic acid, acidity and carbohydrates of *Ananas comosus* (L) Merr., supplied with nitrate or ammonium salts.—*Plant Physiol.*, **19**: 52-75.
1947 Effects of nitrogen on chlorophyll, acidity, ascorbic acid and carbohydrate fractions of *Ananas comosus* (L) Merr.—*Plant Physiol.*, **22**: 97-116.
1956 Pineapple chlorosis in relation to iron and nitrogen.—*Plant Physiol.*, **31**: 211-222.
- SIVARAMA SASTRY, K., and SARMA, P. S.
1957 Glucuronic acid a precursor of ascorbic acid in *Aspergillus niger*.—*Nature*, **179**: 44-45.
- SMITH, A. M., and GILLIES, J.
1940 The distribution and concentration of ascorbic acid in the potato (*Solanum Tuberosum*).—*Biochem. Jour.*, **34**: 1.312-1.320.
- SMITH, F. G.
1952 Ascorbic acid formation in potato tuber slices.—*Plant Physiol.*, **27**: 736-744.
- SMITH, J. H. C.
1948 Protochlorophyll, precursor of chlorophyll.—*Arch. Biochem.*, **19**: 449-454

- SMITH, J. H. C.
1954 The development of chlorophyll and oxygen-evolving power in etiolated barley leaves when illuminated.—*Plant Physiol.*, **29**: 143-148.
- SMITH, J. H. C., and KOSKI, V. M.
1947-48 Carnegie Inst. Wash. Year Book, **47**: 93. En: Granick, S. Biosynthesis of chlorophyll and related pigments.—*Ann. Rev. Plant Physiol.*, **2**: 115-144 (1951).
- STECKEL, J.
1947 (Unpublished data). En: Mineral nutrition of plants, chap. 16.—The University of Wisconsin. Press. U. S. A. (1953).
- STRAIN, H. H.
1949 Functions and properties of the chloroplast pigments. En: Franck, J., and Loomis, W. E. Photosynthesis in plants.—Iowa State College Press., Ames, (1949).
- SZENT-GYORGYI, A.
1937 Studies on Biological oxidation, Leipzig. En: Moustafa, E. M. (1955).
- THOMPSON, S. G.
1943 The cure of deficiencies of iron or manganese.—*Rep. E. Malling Res. Sta.*
- TOMBESI, L.
1951 Variazioni diurne del contenuto in acido ascorbico e glutazione ridotto e dell'attività ossidasica e catalasica sui tessuti fogliari.—*Ann. Sta. Chim. Agrar. Sper. Roma, ser. III, pubbl. 49.*
- URION, E., CHAPON, L., et S. et METCHE, M.
1956 Oxidation couplée de l'acide ascorbique par l'oxygène moléculaire.—*Bull. Soc. Chim. Biol.*, **38**: 1.217-1.227.
- VIRGIN, H. I.
1955 Prochlorophyll formation and greening in etiolated barley leaves.—*Physiol. Plant.*, **8**: 630-643.
1956 Light-induced stomatal transpiration of etiolated wheat leaves as related to chlorophyll *a* content.—*Physiol. Plant.*, **9**: 482-493.
- WALLACE, T.
1928 Investigations on chlorosis of fruit trees. II: The composition of leaves bark and wood of current season's shoots in cases of lime-induced chlorosis.—*Jour. Pomol. Hort. Sci.*, **7**: 172-183.
1944 The diagnosis of mineral deficiencies in plant. A colour atlas and guide. Supplement.
1951 The diagnosis of mineral deficiencies in plant. London.
- WALLACE, T., and MANN, C.
1926 Investigations on chlorosis of fruit trees.—*Jour. Pomol. Hort. Sci.*, **2**: 115-123.
- WILLIAMS, A. H.
1952 The tannin of apple juice and cider: an interpretation of the permanganate titration method.—*Ann. Rep. Long. Ashton Res. Sta.*, 219-227
- WILLSTATTER, R., and STOLL, A.
1918 Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. viii + 448 pp. J. Springer. Berlin. En: Wolf, F. T. (1956).
- WILSON, C. M.
1955 The effect of soil treatments on the tannin content of *Lespedeza sericea*.—*Agr. Jour.*, **47**: 83-86.
- WOLF, F. T.
1956 Changes in chlorophylls *a* and *b* in autumn leaves.—*Amer. Jour. Bot.*, **43**: 714-718.
- YAMAFUJI, K., SO, K., und NAGANO, K.
1943 Über Atmung und Katalasewirkung beim Viruskranken Zuckerrohr.—*Biochem. Zeits.*, **315**: 405.