

1994-A

086405695

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AMBIENTALES

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

**INFLUENCIA DE FACTORES FISICOS Y
BIOQUIMICOS EN LA SENESCENCIA DE
SEGMENTOS DE RAMAS DE *Stenocereus
queretaroensis* (Web.) Buxbaum**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

PRESENTA:

FRANCISCO JOSE CUEVAS PRECIADO

GUADALAJARA, JALISCO, ENERO DE 1996.

Formal

C. ALFONSO ISLAS RODRIGUEZ.
DIRECTOR DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

P R E S E N T E.

Por este conducto me permito solicitar a usted se corran los trámites necesarios para el registro de mi anteproyecto de tesis intitulado "INFLUENCIA DE FACTORES FÍSICOS Y BIOLÓGICOS EN LA SENESCENCIA DE SEGMENTOS DE RAMAS DE *Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum." el cual se anexa, para que sea turnado al comité de titulación de esta dependencia para su revisión y en su caso aprobación.

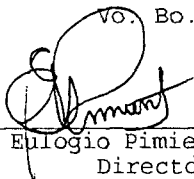
Así mismo pongo a su consideración a: DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS como director de tesis y como asesor de tesis a: Pas. de M.en C. CECILIA NERI LUNA.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para reiterarle mi consideración más distinguida.

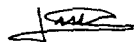
A T E N T A M E N T E

Las agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 14 de julio de 1995

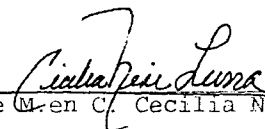
VO. Bo.



Dr. Eulogio Pimienta Barrios.
Director

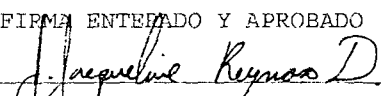
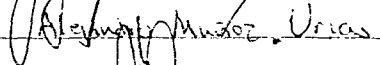
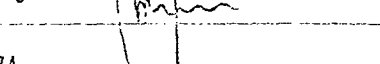


Francisco José Cuevas Preciado
Alumno



P. de M.en C. Cecilia Neri Luna.

EXCLUSIVO COMISION DE TESIS

| SINODALES | FIRMA ENTENDADO Y APROBADO | FECHA |
|--------------------------------|---|----------|
| 1. ING. JACQUELINE REYNOSO |  | 22/08/95 |
| 2. M.C. ALEJANDRO MUÑOZ URTIAS |  | 22/08/95 |
| 3. DR. SERVANDO CARBAJAL HDEZ |  | 22/8/95 |
| SUPL. M.C. MARTIN P. TENA MEZA | | |



Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas y Ambientales

C. FRANCISCO J. CUEVAS PRECIADO
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted, que con esta fecha ha sido aceptada su solicitud de cambio de título de la tesis: **INFLUENCIA DE FACTORES FISICOS Y BIOLOGICOS EN LA SENESCENCIA DE SEGMENTOS DE Stenocereus queretaroensis (Web.) Buxbaum**, por el de **INFLUENCIA DE FACTORES FISICOS Y BIOQUIMICOS EN LA SENESCENCIA DE SEGMENTOS DE RAMAS DE Stenocereus queretaroensis (Weber) Buxbaum**, dirigida por el Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

Sin otro particular por el momento aprovechamos la ocasión para enviar un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan, Jal., 07 de Noviembre de 1995
EL DIRECTOR

M.C. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ

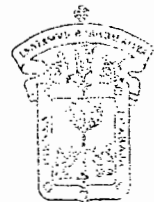
EL SECRETARIO

OCEAN. SALVADOR VELAZQUEZ MAGAÑA

c.c.p.- Dr. Eulogio Pimienta Barrios.- Director de Tesis.- pte.
c.c.p.- El expediente del alumno.

AEIR/SVM/mahs*

C.U.C.B.A.



DIV. DE CS.
BIOLOGICAS Y
AMBIENTALES

Dr. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ
DIRECTOR DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

P R E S E N T E .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el pasante Francisco José Cuevas Preciado, código 086405695 con el título INFLUENCIA DE FACTORES FÍSICOS Y BIOQUÍMICOS EN LA SENESCENCIA DE SEGMENTOS DE RAMAS DE *Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum.

Consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines a que haya lugar.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 17 de Noviembre de 1995

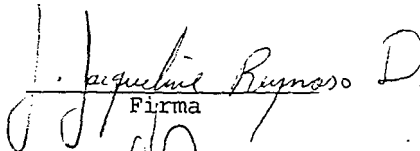
EL DIRECTOR DE TESIS



Dr. Eulogio Pimienta Barrios

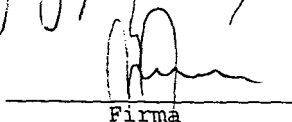
SINODALES

1. Ing. Jáqueline Reynoso



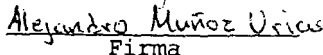
Firma

2. Servando Carvajal



Firma

3. Alejandro Muñoz Urias



Firma

**INFLUENCIA DE FACTORES FISICOS Y BIOQUIMICOS EN LA SENESCENCIA DE
SEGMENTOS DE RAMAS DE *Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum**

DEDICATORIA

A mis padres:

Alvaro Cuevas Ochoa y Esther Preciado Magaña.

Que siempre me han apoyado durante mi desarrollo, tanto académico como humano y a quienes les debo la existencia.

A mis mejores maestros:

Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

M. en C. Libertad Leal lozano.

M. en C. Luis Burgos.

M. en C. Gabriela Ramírez.

Por la trascendencia, calidad e importancia de sus cátedras, las cuales inspiraron y trazaron las directrices, en las que habría de conducirme durante mi formación académica, en mi permanencia dentro de la Facultad de Ciencias Biológicas.

A mis amigos:

L. en B. Armando Romero Barajas, Carlos Omar Romero Vera, Adriana Ramírez León, Consuelo Flores Valenzuela, Ricardo Solís Zamora, Roberto Vázquez Cabrales, Josefina Uribe Ramírez, Susana Valencia Díaz, Susana Zuloaga, Beatriz, Mayra Janette Sánchez Ruiz, Leticia Ramírez, Griselda, Verónica Tobon, Gerardo Hernández Vera, Martha Dalía Canizales, Ernesto Gutiérrez Valencia, Gerardo Quintero Salgado y a los M. en C. Francisco Martín Huerta Martínez y Alejandro Muñoz Urias.

A quienes les agradezco que hicieran mi estancia más grata tanto en el aula de clase, laboratorios de investigación, pasillos de la facultad y reuniones, y que a su vez que me motivaran para seguir adelante, contando siempre con su desinteresada amistad, consejos y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

Por el apoyo que me brindó para que pudiera llevar a cabo este trabajo, sin el no hubiera sido posible su realización, además le agradezco el compartir ese gran cúmulo de conocimientos, experiencias, dedicación, responsabilidad y disciplina dentro del ámbito y desarrollo profesional, con sus estudiantes, estos valores que son por demás escasos en nuestra sociedad.

A la Pas. de M. Cecilia Neri Luna.

Por su valiosa asesoría, consejos, tiempo y paciencia que me brindó para que este trabajo fuera realizado.

Al M. en C. Alejandro Muñoz Urias.

Quien participó como sinodal en esta tesis, además de ser amigo y compañero de laboratorio, por sus observaciones y consejos precisos, durante y en el final de la misma.

Al M. en C. Francisco Martín Huerta Martínez.

Por su valiosa amistad y consejos, en especial, por su persistente preocupación por la formación de profesionistas en el área de Biología en los niveles de docencia e investigación.

A las Biólogas Celia Robles Murguía y Lucila Méndez Morán.

Por el tiempo, consejos y enseñanzas que me brindaron, durante la realización del trabajo de investigación en el laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal.

A los P. de Biología.

Ernesto Gutiérrez Valencia, Alexander De Luna Fors, Gerardo Hernández Vera, Erick de la Barrera Montpellier, Esther Arceta González, Julia Zañudo, Susana Zuloaga y al Biólogo Alejandro Domínguez, todos ellos compañeros tesisistas del Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal, que sin su valiosa ayuda no me hubiera sido posible realizar este trabajo de tesis.

A el Dr. Servando Carvajal y a la Ing. Jacqueline Reynoso, sinodales en este trabajo, por sus observaciones y tiempo dedicado a la revisión del manuscrito.

INDICE

RESUMEN.

| | |
|--|----|
| I. INTRODUCCION..... | 1 |
| II. HIPOTESIS..... | 3 |
| III. OBJETIVOS..... | 4 |
| III.1. General..... | 4 |
| III.2. Particulares..... | 4 |
| IV. REVISION DE LITERATURA..... | 5 |
| IV.1. Descripción de las Zonas Aridas y Semi-áridas..... | 5 |
| IV.2. Descripción de la Familia Cactaceae..... | 6 |
| IV.3. Clasificación Taxonómica de <i>Stenocereus queretaroensis</i> | 7 |
| IV.3.1. Distribución Geográfica del Género <i>Stenocereus</i> | 7 |
| IV.4. Descripción Anatómica y Morfológica de <i>Stenocereus queretaroensis</i> | 8 |
| IV.5. Adaptaciones Morfológicas del Pitayo a la aridez..... | 8 |
| IV.6. Embriología del Pitayo..... | 9 |
| IV.7. Fisiología del Pitayo..... | 10 |
| IV.8. El Pitayo y sus Implicaciones Económicas..... | 10 |
| IV.9. Fotosíntesis..... | 11 |
| IV.9.1. Reacción de Hill..... | 12 |
| IV.9.2. Metabolismo Acido Crasuláceo (MAC) en el ambiente desértico..... | 13 |
| IV.9.2.1. Metabolismo MAC..... | 13 |
| IV.9.2.2. El mucílago y el almidón en los cactos..... | 14 |

| | | |
|------------|--|----|
| IV.10. | Efecto de Luz en la Morfogénesis..... | 15 |
| IV.10.1. | Efecto de la luz en el desarrollo y la senescencia..... | 16 |
| IV.10.2 | Efecto de la luz en la síntesis de clorofila..... | 16 |
| IV.11. | Senescencia..... | 17 |
| IV.11.1. | Estudio e importancia del proceso de senescencia..... | 18 |
| IV.11.2. | Factores internos y externos que causan la senescencia..... | 19 |
| IV.11.2.1. | Factores internos..... | 19 |
| IV.11.2.2. | Reguladores del crecimiento.. | 19 |
| IV.11.2.3. | Factores externos..... | 20 |
| IV.11.3. | Reversibilidad de la senescencia..... | 22 |
| IV.11.3.1. | Teoría del decaimiento..... | 22 |
| IV.11.4. | La senescencia en los organelos..... | 22 |
| IV.11.5. | Degradación de pigmentos durante la senescencia..... | 24 |
| IV.11.6. | Similaridades entre la senescencia de hojas y frutos..... | 24 |
| IV.11.7. | Degradación, senescencia y pérdida de proteínas de partes reproductivas y vegetativas, en cultivos y alimentos cosechados..... | 25 |
| IV.11.7.1. | Cambios en las estructuras lípidicas..... | 25 |
| IV.11.7.2. | Cambios en el contenido de clorofila..... | 25 |
| IV.12. | Senescencia: el Ambiente y los Genes..... | 26 |
| IV.12.1. | Genes regulados por la luz..... | 27 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| IV.12.2. | Genes regulados por la temperatura..... | 28 |
| IV.12.3. | Genes regulados por las hormonas..... | 28 |
| IV.13. | Fitohormonas..... | 29 |
| IV.13.1. | Citocininas..... | 29 |
| IV.14. | Inhibidores de la Expresión Nuclear..... | 30 |
| IV.14.1. | Cicloheximida..... | 32 |
| IV.14.2. | Cloramfenicol..... | 32 |
| V. | MATERIALES Y METODOS..... | 33 |
| V.1. | Material Vegetal y Procedencia..... | 33 |
| V.2. | Establecimiento de los Experimentos..... | 33 |
| V.3. | Descripción de la Metodología Para Determinar el Contenido de Clorofila y la Viabilidad de Cloroplastos..... | 35 |
| V.3.1. | Determinación del contenido de clorofila..... | 35 |
| V.3.2. | Aislamiento y determinación de la viabilidad de cloroplastos..... | 35 |
| V.4. | Análisis Estadístico..... | 36 |
| VI. | RESULTADOS..... | 37 |
| VI.1. | Observaciones Visuales del Proceso de Senescencia.. | 37 |
| VI.2. | Análisis de las Variables Ambientales Luz y Temperatura..... | 37 |
| VI.3. | Efecto de la Benciladenina (BAP) en la Senescencia de Segmentos de Parénquima de Pitayo con Diferentes Contenidos de Almidón..... | 37 |
| VI.4. | Efecto de la Chicloheximida (CH) en la Senescencia de Segmentos de Parénquima de Pitayo... | 39 |

| | | |
|-------|--|----|
| VI.5. | Análisis del Contenido de Clorofila "a" y "b"..... | 39 |
| VI.6. | Efecto de la Aplicación de Benciladenina (BAP) en la Viabilidad de Cloroplastos Aislados A partir de Segmentos de Parénquima de Pitayo con Diferentes Contenidos de Almidón..... | 41 |
| VI.7. | Efecto de la Aplicación de Cicloheximida(CH) en la Viabilidad de los Cloroplastos Extraídos A partir de Segmentos de Parénquima de Pitayo..... | 41 |
| VI.8. | Análisis Estadístico..... | 43 |
| VII. | DISCUSION..... | 45 |
| VIII. | CONCLUSIONES..... | 50 |
| IX. | LITERATURA CONSULTADA..... | 52 |
| X. | APENDICE..... | 60 |

INDICE DE CUADROS

- Cuadro 1.** Efecto de la temperatura, sobre la síntesis de clorofila, en luz (1000-1100 lux) y su subsecuente retención en la obscuridad en tubérculos de papa.
- Cuadro 2.** Tasas degradativas de clorofila en $\mu\text{g h}^{-1}$ en segmentos de *Stenocereus queretaroensis*, de tejidos con el **100%** de almidón, bajo la influencia de la **BAP** (benciladenina) a distintas concentraciones.
- Cuadro 3.** Tasas degradativas de clorofila en $\mu\text{g h}^{-1}$ en segmentos de *S. queretaroensis*, de tejidos con el **50%** de almidón, bajo la influencia de la **BAP** a distintas concentraciones.
- Cuadro 4.** Tasas degradativas de clorofila en $\mu\text{g h}^{-1}$ en segmentos de *S. queretaroensis*, de tejidos con el **0%** de almidón, bajo la influencia de la **BAP** a distintas concentraciones.
- Cuadro 5.** Tasas degradativas de clorofila en $\mu\text{g h}^{-1}$ en segmentos de *S. queretaroensis*, bajo la influencia de **CH** (cicloheximida) a distintas concentraciones.
- Cuadro 6.** Índice de reducción del DCPIP en $\mu\text{moles mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de clorofila en cloroplastos extraídos a partir de segmentos de *S. queretaroensis* de tejidos con el **100%** de almidón, bajo la influencia de la **BAP** a distintas concentraciones.
- Cuadro 7.** Índice de reducción del DCPIP en $\mu\text{moles mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de clorofila en cloroplastos extraídos a partir de segmentos de *S. queretaroensis* de tejidos con el **50%** de almidón, bajo la influencia de la **BAP** a distintas concentraciones.
- Cuadro 8.** Índice de reducción del DCPIP en $\mu\text{moles mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de clorofila en cloroplastos extraídos a partir de segmentos de *S. queretaroensis* de tejidos con el **0%** de almidón, bajo la influencia de la **BAP** a distintas concentraciones.
- Cuadro 9.** Índice de reducción del DCPIP en $\mu\text{moles mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de clorofila en cloroplastos extraídos a partir de segmentos de *S. queretaroensis*, bajo la influencia de **CH** a distintas concentraciones.

- Cuadro 10.** Contenido de clorofila "a" y "b" en $\mu\text{g mL}^{-1}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* con el 100% de almidón, bajo la influencia de la BAP a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (0).
- Cuadro 11.** Contenido de clorofila "a" y "b" en $\mu\text{g mL}^{-1}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* con el 50% de almidón, bajo la influencia de la BAP a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (0).
- Cuadro 12.** Contenido de clorofila "a" y "b" en $\mu\text{g mL}^{-1}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* con el 0% de almidón, bajo la influencia de la BAP a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (0).
- Cuadro 13.** Contenido de clorofila "a" y "b" en $\mu\text{g mL}^{-1}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* bajo la influencia de la CH a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (0).

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Factores implicados en la iniciación de la senescencia.
- Figura 2.** Propuesta sobre las relaciones entre senescencia y necrosis.
- Figura 3.** Estructuras de las citocininas más comunes, naturales y sintéticas.
- Figura 4.** Porcentajes de clorofila de segmentos de *S. queretaroensis* en tejidos con el 100% de almidón (I), 50% de almidón (II) y 0% de almidón (III), incubados en diferentes concentraciones de BAP, bajo las condiciones de luz (a) y oscuridad (b).
- Figura 5.** Porcentajes de clorofila en segmentos de *S. queretaroensis* incubados en diferentes concentraciones de CH.
- Figura 6.** μ moles de DCPIP reducidos/mg de clorofila h^{-1} de cloroplastos aislados a partir de segmentos de *S. queretaroensis* en tejidos con el 100% de almidón (I) 50% de almidón (II) y 0% de almidón (III), incubados en diferentes concentraciones de BAP, bajo las condiciones de luz (a) y oscuridad (b).
- Figura 7.** μ moles de DCPIP reducidos/mg de clorofila h^{-1} de cloroplastos aislados a partir de segmentos de *S. queretaroensis*, incubados en diferentes concentraciones de CH.
- Figura 8.** Degradación basal *in vitro* de la clorofila de *S. queretaroensis*.
- Figura 9.** Temperatura y energía radiante promedio en μ moles $m^{-2} s^{-1}$, durante los experimentos.

RESUMEN

Se hizo una investigación *in vitro* sobre el proceso de senescencia en segmentos de ramas de *Stenocéreus queretaroensis* (Web.) Buxbaum. Para ello se aplicó la fitohormona benciladenina (**BAP**) con el fin de retardar dicho proceso. Este trabajo reveló que la aplicación de ésta retarda la expresión del síndrome de senescencia siendo ese retraso más evidente en condiciones de obscuridad que en la condición de luz. Se observó además que la tasa de senescencia es mayor durante los primeros dos días, para después continuar aunque con una tasa menor, por lo que se presume que la senescencia inicial se debe más a un efecto físico que metabólico. Además, no se descarta la influencia de el control nuclear en el proceso de senescencia, ya que la aplicación de cicloheximida (**CH**) retardó la expresión de ésta y su efecto fué más pronunciado que el registrado cuando se aplicó **BAP**, aunque el efecto de ésta ocurre después transcurrir un período comprendido entre dos y cuatro días con relación al inicio de los tratamientos, por lo cual se concluye; que los genes nucleares que regulan la senescencia tardan un mínimo de 48 horas para expresarse.

El contenido de almidón presente en los segmentos afectó la acción de la **BAP**, ya que cuando el contenido de almidón fue de 0%, se encontró un mayor efecto hormonal en el control de la senescencia, medida ésta a través del contenido de clorofila y viabilidad de los cloroplastos, que cuando esta hormona se aplicó en segmentos que contenían el 50% y 100% de almidón. Lo anterior nos permite concluir que los niveles de energía libre potencial presentes en el almidón, colaboran en el desarrollo del proceso de senescencia, con lo cual este proceso se consideraría como endergónico.

I. INTRODUCCION

El desarrollo de cualquier organismo vegetal conlleva dos procesos fundamentales: el crecimiento y la diferenciación. Ambos eventos ocurren en forma sincronizada durante el desarrollo vegetal. El crecimiento de los órganos de las plantas resulta de la acción conjunta de la división y elongación celular las que se acompañan de un proceso de especialización celular conocido como diferenciación (Bidwell, 1979; Salisbury y Ross, 1994). Los procesos anteriormente descritos, son continuos durante la vida de la planta, aunque en las fases finales de ésta disminuyen notablemente, debido a que se inicia la fase de maduración, culminando con la senescencia celular, la cual «es una secuencia de acontecimientos perfectamente ordenados y programados que propician la pérdida de organización en las funciones vitales» (Bidwell, *op. cit.*). Una forma de activar la senescencia o muerte celular es a través de la inducción de heridas, la herida posee una gran variedad de efectos entre los que se encuentran: la degradación de fosfolípidos y por tanto, de las membranas. En tabaco en algunas ocasiones éstas heridas incrementan la actividad de la peroxidasa en 50 veces, por ello las actividades de peroxidación aumentan en el tejido herido (Thimann, 1980).

Las hormonas vegetales juegan un papel importante en la regulación del desarrollo vegetal, por tanto es frecuente encontrar reportes en los que se menciona su participación activa en diferentes eventos, tales como: floración, embriogénesis, maduración de frutos, senescencia, y otros, además de actuar como transductores de los mensajes ambientales, lo cual es una necesidad prioritaria en las plantas por su característica de permanecer fijas a un sustrato (Bradford y Trewavas, 1994). Sin embargo el esquema anterior contrasta con el de los animales, en los cuales su desarrollo es controlado por aproximadamente 40 hormonas, mientras que en los vegetales el control de su desarrollo se circunscribe únicamente a cinco fitohormonas: auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno.

La mayoría de los estudios de la respuesta hormonal se ha realizado en especies cultivadas y en pocos casos se reporta su respuesta en plantas no-domesticadas. Uno de los principales objetivos de este trabajo es contribuir al conocimiento biológico de *Stenocereus queretaroensis* que es una planta de reciente domesticación que todavía conserva características

biológicas comunes con plantas silvestres (Pimienta y Nobel, 1994; Nobel y Pimienta, 1995). En este trabajo se intenta comprender la respuesta del tejido sometido a las lesiones mecánicas (heridas) que activan el proceso de senescencia que conduce hacia la muerte celular y cómo es que el efecto de esta herida o daño al tejido puede ser regulado a través de factores físicos, bioquímicos, genéticos y hormonales.

II. HIPOTESIS

La expresión del síndrome de senescencia en segmentos de ramas de *Stenocereus queretaroensis* esta sujeta al control hormonal, el cual a su vez, se encuentra regulado por la expresión de genes nucleares, por lo que cabe esperar que la aplicación de la fitohormona (benciladenina) así como la del inhibidor de la transcripción nuclear (cicloheximida), retarden o inhiban con diferentes grados de intensidad, el desarrollo de la senescencia inducida a través de las heridas provocadas al extraer el tejido.

III. OBJETIVOS

III.1. General.

Analizar el síndrome de senescencia en segmentos de ramas de *Stenocereus queretaroensis*, a través de las influencias e interacciones que se llevan a cabo entre los factores físicos y bioquímicos que afectan el desarrollo de este proceso.

III.2. Particulares.

1. Determinar el efecto de la luz y la temperatura en la expresión del proceso de senescencia en segmentos de ramas de *S. queretaroensis*.
2. Investigar el efecto de la citocinina benciladenina en el síndrome de senescencia del pitayo.
3. Evaluar la importancia de la participación de los genes nucleares en la expresión del proceso de senescencia en segmentos de ramas de *S. queretaroensis*.

IV. REVISION DE LITERATURA

IV.1. Descripción de las Zonas Aridas y Semi-Aridas.

Las zonas áridas son aquellas en donde llueve muy poco o nada, presentándose por lo regular carencias de agua, ocupan una extensión importante de los continentes, estimándose ésta en una quinta parte del área de la tierra. Se calcula además, que sostiene a casi un billón de personas, donde habita el 20% de la población mundial (UCAR, 1991). Una de las características notables de las regiones áridas y semiáridas de México, es su gran dinámica y variedad, la cual puede observarse a nivel geológico, geomorfológico, climático, edáfico, ecológico, de aprovechamiento, y otros. Con respecto a la cubierta vegetal de estas zonas, se presentan características de gran interés, en algunas facetas de su fisonomía y florística; las formas arbustivas prevalecen comúnmente en las vegetaciones xerófilas, en algunas ocasiones dominan los árboles y en otras las especies herbáceas, sobre todo las gramíneas. Los contrastes son marcados entre las comunidades esencialmente siempre verdes, comparadas con otras totalmente caducifolias, de igual forma ocurre para las estructuras simples frente a otras multiestratificadas y de interrelaciones complejas. La abundancia local de algunas formas biológicas especializadas, contribuyen asimismo a efectos fisonómicos notables, a menudo espectaculares (Rzedowski, 1983). En las regiones áridas las características topográficas de la roca madre y sobre todo del suelo, opacan la influencia del clima. Por lo general, las texturas arenosas son más favorables que las arcillosas. Igualmente, los suelos someros y pedregosos de cerros que sostienen por lo común mucho más biomasa y biodiversidad, que los suelos profundos y finos de los terrenos aluviales de las grandes llanuras. La variedad de formas biológicas vegetales, es un rasgo común en muchas regiones áridas del mundo y pueden interpretarse, como el resultado de un gran número de vías distintas, que han encontrado las plantas, para adaptarse a las limitaciones de agua (Rzedowski, *op cit.*).

IV.2. Descripción de la Familia Cactaceae.

La familia Cactaceae es originaria del continente Americano, aunque debido a la ausencia de restos fósiles no se puede establecer la época de aparición y origen (Bravo, *op. cit.*). Sin embargo, este grupo es relativamente joven desde el punto de vista evolutivo y se cree que las cactáceas derivaron de las portulacáceas, aunque Mauseth (1991) con base en evidencias biogeográficas ha propuesto que el posible origen de esta familia fue hace 90 o 100 millones de años. Su diseminación fue después de que América del Sur y África estuvieron totalmente separadas (20 a 30 millones de años) (Boke, 1980). Ya que este último continente sólo posee el género *Rhipsalis* perteneciente a esta familia (Muñoz, 1995).

Las cactáceas son especies nativas de las zonas áridas y semi-áridas, por lo general son espinosas y se caracterizan por poseer órganos especiales llamados aréolas. Los limbos de sus hojas están reducidos a pequeñas escamas o primordios anatómicos, los cuales sólo se desarrollan en especies de los géneros *Pereskia* y *Pereskopsis* y por lo común son grandes, aplanados y carnosos. Poseen espinas de tamaño y forma variables producen ramas, glóquidas, glándulas (lana) y pelos. Sus flores casi siempre son solitarias, y en ocasiones se encuentran en inflorescencias. Presentan frutos jugosos dehiscentes, con el pericarpio cubierto de aréolas y escamas. Las semillas de las cactáceas, tienen variaciones en el tamaño, estructura, forma y color de la testa, aunadas, también a las características del embrión y tejidos almacenadores de las sustancias nutritivas. Todo ello ha sido atribuido a sus caracteres filogenéticos y taxonómicos (Bravo, *vide* Robles, 1994).

IV.3. Clasificación Taxonómica de *Stenocereus queretaroensis*.

Stenocereus queretaroensis (Weber) Buxbaum, puede clasificarse de la siguiente manera.

Orden Cariophyllales

Familia Cactaceae

Subfamilia Cactoidea

Tribu Pachycereae

Subtribu Stenocereinae

Género *Stenocereus*

Especie *queretaroensis*

y se le conoce con el nombre vulgar de "Pitayo de querétaro" (Buxbaum, 1950; Bravo, *op cit.*).

IV.3.1. Distribución geográfica del género *Stenocereus*.

El género *Stenocereus* se encuentra ampliamente distribuido en México y tiene representantes en las Antillas y en la parte norte de América del Sur (Bravo, *op. cit.*). Las especies silvestres de este género que producen frutos comestibles, son encontrados de manera común hacia el interior de las montañas costeras sub-tropicales y en las llanuras costeras de las zonas semi-áridas de la costa oeste (desde Sonora hasta Chiapas) y en la costa este (desde Tamaulipas a Veracruz) de México. Respecto a las especies cultivadas, que son consideradas como las de mayor importancia económica, se encuentran: *S. queretaroensis*, *S. griseus*, *S. pruinosus* y *S. stellatus*. De ellas, *Stenocereus queretaroensis* se cultiva en los siguientes estados del territorio mexicano: Jalisco, Colima, Guanajuato y Querétaro. De manera particular, el estado de Jalisco cuenta con una amplia distribución tanto de las formas silvestres, como de las poblaciones cultivadas (Pimienta y Nobel, 1994).

IV.4. Descripción Anatómica y Morfológica de *Stenocereus queretaroensis*.

Stenocereus queretaroensis es una planta arborescente, por lo común mide más de 8 metros de altura, tiene un tronco con un bien definido y cuenta con numerosas ramas, los tallos son cilíndricos y generalmente tienen 8 costillas prominentes, con un diámetro que oscila entre los 13 y 18 cm; cuando éste llega a la madurez, es de color verde con tintes rojizos. El conjunto de ramas forma una copa muy amplia, llega en ocasiones a medir hasta 4 m de altura. Presenta de 2 a 4 espinas centrales gruesas, de aproximadamente 4 cm de largo. El fruto varía de globoso a ovoide, mientras que el período de maduración abarca el lapso comprendido de finales de abril hasta junio (Pimienta y Nobel, 1994).

Al madurar el fruto, las aréolas se desprenden quedando el pericarpelo desnudo, las semillas son numerosas, pequeñas y frágiles (Bravo, *op. cit.*). La flor de *S. queretaroensis* comienza a abrir al iniciar la noche (7 pm) y dos horas más tarde se encuentra completamente abierta; luego, comienza a cerrarse durante las primeras horas del día y lo hace completamente al mediodía (Lomelí, 1991). La cutícula de los tallos de *S. queretaroensis* presenta alrededor de $14\mu\text{m}$ de grosor, que es considerada como gruesa y representa una importante adaptación a la aridez, ya que con ello la planta reduce la transpiración y aumenta su capacidad para soportar los períodos largos de sequía (Nobel, 1994). Con respecto a los estomas, el pitayo presenta una densidad baja de éstos (30 a 42 mm^2) en las ramas fotosintéticas. La longitud de los estomas es de $40\mu\text{m}$ y las células guarda están rodeadas por cuatro células subsidiarias en posición radial (Jiménez *et al.*, 1995).

IV.5. Adaptaciones Morfológicas del Pitayo a la Aridez.

En condiciones de aridez, donde el agua es el principal factor limitante, la evolución de las especies vegetales se establece al sufrir éstas, modificaciones estructurales y funcionales. El pitayo como un especie nativa de las zonas áridas y semi-áridas ha sufrido diversas adaptaciones, sin embargo presenta un menor número de modificaciones anatómicas, que contribuyan para adaptarse a la aridez con respecto a los miembros de *Opuntia* (Pimienta *et al*,

1995). En el pitayo, los estomas no se encuentran hundidos y sus hojas son reemplazadas por tallos fotosintéticos, que presentan una baja densidad de estomas comparada con la densidad que se aprecia en las hojas (Gibson y Nobel, 1986). Además, la presencia del tejido llamado «aerénquima», en el mismo colénquima, al lado del tejido clorénquima, presenta homología con el mesófilo de las hojas de las dicotiledóneas del tipo mesomórfico, conocidas como hojas dorsiventrales; en las que se diferencian dos capas de parénquima: de empalizada y esponjoso. Observaciones sobre la morfología del xilema, revelan que en distintas variedades de pitayo se presentan niveles altos de especialización (Jiménez *et al. op. cit.*).

IV.6. Embriología del Pitayo.

El desarrollo de la semilla en *S. queretaroensis* ocurre bajo la época de estiaje, sin embargo, con la aplicación de agua el número de semillas se incrementa, pero no así el tamaño de éstas. Después de la polinización, cuando ocurre el estrés hídrico frecuentemente se presenta la aborción del embrión y la reducción en el número de semillas producidas. Con la aplicación de agua durante el desarrollo de éstas, la probabilidad de aborción del embrión disminuye, aunque el tamaño de la semilla también se reduce. La maduración de semillas, acontece poco antes de la estación lluviosa, de esta forma tanto la germinación como el desarrollo de las semillas, así como el establecimiento de las plántulas ocurre al inicio del período húmedo (Domínguez, 1995).

Las semillas de *S. queretaroensis* contienen una cantidad relativamente alta de lípidos y germinan en respuesta a la luz. En otras especies silvestres las semillas también responden a la luz, son pequeñas y ricas en lípidos (Domínguez, *op. cit.*). Por su tamaño pequeño y bajos requerimientos de luz, estas semillas tienen que estar cerca de la superficie del suelo, para poder lograr un exitoso establecimiento de sus plántulas (Salisbury y Ross, 1994). Las características biológicas de las semillas y otros atributos reproductivos de *S. queretaroensis* son similares a las que presentan las plantas no-domesticadas y reflejan con ello, la domesticación relativamente reciente de esta especie (Pimienta y Nobel, 1995).

IV.7. Fisiología del Pitayo.

El pitayo asimila CO_2 por las noches, lo cual es característico de las plantas que presentan metabolismo ácido crasuláceo (MAC). «En este tipo de metabolismo existe una diferencia en tiempo y espacio con respecto a la fijación y reducción del CO_2 ».

Una evaluación de la actividad fotosintética del pitayo, mediante un analizador de gases en condiciones de invernadero, presentó una tasa neta de asimilación del CO_2 en un período de 24 h de $190 \text{ mmol m}^{-1} \text{ d}^{-1}$, mostrando una relación directa con la intensidad de radiación fotosintéticamente activa, que incide sobre la planta (Nobel y Pimienta, 1955). La actividad fotosintética del pitayo es afectada por las temperaturas nocturnas y la duración del período de sequía, cuando la temperatura es de 35°C y la temperatura nocturna es de 18°C , la tasa fotosintética es de $230 \text{ mmol m}^{-1} \text{ d}^{-1}$, sin embargo se reduce un 20% ($177 \text{ mmol m}^{-1} \text{ d}^{-1}$) cuando se mantiene la misma temperatura y la nocturna se reduce a 8°C . La actividad fotosintética, es afectada por la sequía cuando ésta se prolonga por más de 15 días (Pimienta y Nobel, 1995). Estos valores de tasas fotosintéticas registradas en *S. queretaroensis* son similares a los reportados en otras especies MAC perennes y silvestres. Esto es otra evidencia de una reciente e incompleta domesticación en la que únicamente han participado los campesinos, los que le han asignado una mayor importancia a la calidad de los frutos y a la resistencia a factores naturales adversos, sin considerar la productividad de biomasa (Pimienta y Nobel, 1994; Robles, *op. cit.*).

IV.8. El Pitayo y sus Implicaciones Económicas.

Los frutos del pitayo conocidos como «pitayas», son producidas por diferentes especies del género *Stenocereus* han sido un fruto comestible de gran importancia en las zonas semi-áridas tropicales y subtropicales de México, desde tiempos muy remotos. Las pitayas alcanzan precios competitivos en los mercados regionales, teniendo una apreciable rentabilidad económica por la baja aplicación de energía antropógena *e.g.* agua de riego, pesticidas y fertilizantes (Pimienta y Nobel, *op. cit.*). En plantas maduras con alrededor de 23 años de edad, se producen rendimientos que pueden llegar a ser de aproximadamente $17 \text{ toneladas por ha}^{-1}$. Las plantas

son longevas, ya que en la subcuenca de Sayula se encuentran plantaciones comerciales de hasta más de 100 años de edad, que aún presentan rendimientos comerciales aceptables, aunque menores a los que presentan plantas maduras de 40 a 50 años (Pimienta y Nobel, *op. cit.*; Domínguez, *op. cit.*).

IV.9. Fotosíntesis.

El proceso fotosintético se elucidó gracias a una serie de investigaciones, entre las que destacan las efectuadas a principios de los años cincuenta por Calvin y colaboradores, ya que lograron que las plantas fotosintetizaran compuestos intermediarios a partir de $^{14}\text{CO}_2$. Sus resultados permitieron descifrar la naturaleza de las reacciones químicas involucradas desde la incorporación del CO_2 por los cloroplastos de las hojas hasta su transporte por la savia en forma de compuestos orgánicos $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (Somerville y Somerville, 1984; Salisbury y Ross *op. cit.*).

La fotosíntesis se compone de casi un centenar de reacciones, las cuales ocurren en las plantas verdes, agrupadas en dos fases: La fotoquímica, que ocurre solamente cuando las plantas están iluminadas y la de carboxilación, que puede suceder en ausencia o presencia de luz (Thomas *et al.*, 1988). En la fase fotoquímica la captación de la energía radiante y electromagnética se realiza a través de un conjunto de pigmentos, que absorben la energía luminosa y la convierten en energía química, la cual se almacena como reductor en forma de NADPH y como potencial de fosforilación en forma de ATP. Para remover los electrones del agua y efectuar la reducción del NADP^+ a NADPH así como la fosforilación del ADP hacia ATP, se requiere la operación en secuencia de dos fotosistemas, sin embargo; el transporte de electrones se encuentra normalmente limitado por la tasa de fijación del CO_2 la cual regenera NADP^+ y ADP (Hind, 1988). La liberación asociada de O_2 proporciona una medida conveniente de la tasa de asimilación de carbono (Bidwell, 1979). Por otro lado, en la fase de carboxilación el ATP y el NADPH se emplean para reducir el bióxido de carbono para formar glucosa y otros productos orgánicos. La formación de oxígeno ocurre solamente en presencia de luz, mientras que la reducción del bióxido de carbono no precisa de luz, por lo tanto, son dos procesos distintos y separados. A pesar de que las reacciones en las que se reduce CO_2 hasta

glucosa, pueden transcurrir en la oscuridad, son reguladas por la luz (Salisbury y Ross, *op. cit.*)

En las células fotosintéticas eucarióticas, ambas fases fotoquímica y de carboxilación ocurren en los cloroplastos, los cuales son considerados las fabricas de energía más importantes en los vegetales. No obstante, las hojas verdes contienen también mitocondrias, estos organelos producen ATP para atender las necesidades energéticas de la célula durante la noche, empleando oxígeno para oxidar al carbohidrato producido en los cloroplastos durante el día (*Bidwell, op. cit.*; *Thomas et al, op. cit.*).

IV.9.1. Reacción de Hill.

Los primeros estudios sobre el transporte de electrones y fotofosforilación en fracciones de cloroplastos, se efectuaron empleando métodos de aislamiento que provocaban que las envolturas externas de estos organelos se destruyeran como consecuencia del choque osmótico que sufrían, por tanto, se causaba la pérdida de los aceptores finales de los electrones (NADP+ y ferrocianuro); sin embargo, se observó que al perder la barrera de permeabilidad los cloroplastos, se podían emplear aceptores artificiales de electrones como oxidantes y reductores terminales, ADP y fósforo inorgánico; lo que permitiría entender y evaluar la actividad de segmentos aislados de la cadena de transporte de electrones, así como las reacciones de fotofosforilación relacionadas con la fotosíntesis (Yamashita, 1971; Arnon, 1991).

El estudio de las reacciones parciales en fracciones de cloroplastos produjo información valiosa como la generada por Hill y sus colaboradores en 1951, quienes descubrieron que el CO₂ liberado durante la fotosíntesis podía ser separada de la fijación de CO₂ en presencia de una sal ferrica. Encontraron que los cloroplastos aislados de las hojas liberan O₂ en presencia de varias sustancias solubles contenidas en la planta mediante la adición de reactivos que podían aceptar los electrones que son extraídos del agua durante la fase fotoquímica de la fotosíntesis. A esta actividad del cloroplasto se le conoce como «la reacción de Hill» (Castelfranco, *op. cit.*; Arnon, *op. cit.*). Uno de los colorantes que se utiliza con más frecuencia como aceptor artificial de la reacción de Hill es el 2,6 Diclorofenol indofenol (DCPIP); el empleo de este reactivo se debe a su capacidad de aceptar electrones a partir del PS-IIb, propiedad que es importante en el

estudio del proceso fotosintético, ya que esta parte de la cadena de transporte de electrones se vincula estrechamente con la fotólisis del agua, además; la fotoreducción del DCPIP tiene mayor relación con la producción de O_2 que la mostrada por otros aceptores artificiales; como es el caso de el ferrocianuro (Margulies, 1966; Yamashita et al., 1971; Huzisiege y Yamamoto, 1973).

IV.9.2. Metabolismo ácido crasuláceo (MAC) en el ambiente desértico.

La fisiología y ecología de las plantas MAC ha recibido recientemente mucha atención, principalmente en lo que se refiere a los estudios sobre isótopos de carbono y el balance del agua en la relación ambiente-tejido. Actualmente, existe la tendencia a evaluar los cambios que ocurren con respecto a los carbohidratos, en cuanto a su contenido y distribución en aquellas plantas que están creciendo bajo la influencia de un ambiente desértico.

Desde hace tiempo, la determinación del contenido de ácido málico se utiliza como un indicador de la actividad MAC, aún cuando éste se acompañe de glucanos, mucílago y azúcares solubles. Es por ello, que se ha pensado la función del glucano, es convertirse en la fuente de carbono para la síntesis del ácido málico, de igual forma se estudia el papel del mucílago implicado en eventos relacionados con la economía del agua en los cactus (Sutton *et al.*, 1981; Nobel, 1990).

IV.9.2.1. Metabolismo MAC.

Algunos géneros de entre 25 y 30 familias muestran el metabolismo MAC, en otros casos sin embargo, es exclusivo de ciertos grupos (e.g. Crasuláceas y Cactáceas) (Kluge y Ting, 1978). El metabolismo ácido crasuláceo se define como una fluctuación masiva diurna de la acidez titulable, debido a las variaciones en el contenido de ácido málico. La fluctuación de ácidos orgánicos es el resultado de la fijación nocturna del CO_2 , que es catalizada por la enzima fosfoenol piruvato-carboxilasa (PEPc) (E.C. 4.1.1.31) usando al fosfoenol piruvato como aceptor, produciendo oxalacetato, el oxalacetato es rápidamente reducido a malato, a través de una reacción catalizada por la enzima malato deshidrogenasa, después, el malato es transportado a las vacuolas, donde se acumula durante la noche, causando la acidificación típica de las plantas

MAC (Luttge y Ball, 1979). Durante el subsecuente período de luz, el ácido málico fluye desde la vacuola al citoplasma y después a los cloroplastos donde es descarboxilado para producir CO_2 y un carbohidrato de tres carbonos (piruvato), el cual es precursor del fosfoenolpiruvato que es el aceptor del CO_2 en el mesófilo. Este CO_2 es fijado y reducido a través del ciclo de Calvin en los cloroplastos (Ting, 1985; Nobel y Jordan, 1983; Kalt *et al.*, 1990).

IV.9.2.2. El mucílago y el almidón en los cactus.

Los llamados complejos mucopolisacáridos, se refieren principalmente a mucílagos, que se presentan en algas, células de la cofia en raíces, frutos y semillas, también se encuentran en tallos vegetativos (Esau, 1965). El mucílago puede actuar como un reservorio de agua, ya que posee la capacidad higroscópica de retenerla, de esta forma durante los períodos estacionales que favorecen la pérdida del agua, el mucílago colabora evitando la pérdida de ésta a nivel intracelular (Loik y Nobel, 1991).

Existen variaciones en cuanto al contenido de mucílago, entre las distintas especies, de acuerdo con ciertos factores climáticos y ambientales; como son la luz, temperatura y otros. Se ha propuesto que el mucílago es un factor que aumenta la resistencia al frío; por ejemplo, en *Opuntia ficus-indica* cuando baja la temperatura ($8-5^{\circ}\text{C}$) el contenido de éste se incrementa en un 24% y en *Opuntia humifusa* es de aproximadamente el doble (Goldstein y Nobel, 1991; Loik y Nobel, *op. cit.*).

Los cloroplastos de las plantas MAC, presentan tasas bajas de fijación fotosintética del CO_2 y acumulan una gran cantidad de almidón, lo cual nos sugiere alguna diferencia funcional entre los cloroplastos MAC y los cloroplastos C_3 y C_4 , con respecto a la distribución de fotosintetizados. En algunas especies cuando la traslocación es lenta y la fotosíntesis es rápida; se acumulan los gránulos de almidón, los cuales presionan los tilacoides de los cloroplastos de manera que quedan muy juntos e impiden físicamente que la luz llegue a ellos impidiendo la fotosíntesis. (Gerwick, 1977; Margulies, 1966). El almidón se almacena en forma de gránulos insolubles en agua que se constituyen a partir de moléculas de amilopectina, muy ramificadas y de amilosa, casi sin ramificar. El almidón que se acumula en los cloroplastos durante la fotosíntesis es el carbohidrato de reserva que más abunda en las hojas de la mayoría de las

especies. Sin embargo, el que se forma en los amiloplastos de los órganos de almacenamiento, a partir de sacarosa trasladada u otros azúcares no reductores, representa un sustrato respiratorio importante para los órganos de almacenamiento. La degradación del almidón provee a la planta un aporte importante de energía, que se obtiene a través de la respiración, además, aporta una serie de sillares de carbono que se constituyen en intermediarios durante la ciclos de biosíntesis en la formación de grasas y proteínas. En condiciones desfavorables (ambiente limitante o lesiones), los niveles de energía libre potencial presentes en el almidón mantienen el estado metabólico funcional por más tiempo, utilizando para tal fin a los sillares de carbono y a la energía liberada durante la descomposición del polisacárido, para ser utilizados en actividades tanto anabólicas como catabólicas debido a que sus componentes representan un potencial reductor de consideración (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

IV.10. Efecto de la Luz en la Morfogénesis.

La luz es un factor ambiental importante que controla el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que tiene un efecto sobre la fotosíntesis debido a que en este proceso los pigmentos fotosintéticos capturan la energía luminosa para transformarla en energía química. Otro efecto es el fotomorfogénico, en el cual un pigmento llamado fitocromo actúa como transductor ambiental de importantes procesos en las plantas (Bidwell, *op. cit.*), cómo es el caso del fototropismo y otros efectos, productos de la luz y que son independientes de la fotosíntesis, y la mayoría de éstos controlan la forma de la planta. En la morfogénesis de la planta influyen cuatro tipos de fotoreceptores:

- 1) Fitocromo, el cual absorbe principalmente la luz visible en la región del rojo, rojo lejano y la luz azul.
- 2) Criptocromo, pigmentos no identificados que absorben longitudes de onda en las regiones del azul y ultravioleta. Estos pigmentos son comunes en las Criptógamas.
- 3) Fotorreceptor UV-V, son uno o más compuestos no identificados que absorben radiación ultravioleta en longitudes de onda entre 280 y 320 nm.
- 4) Fotoclorofilina A, pigmento que absorbe la luz roja y azul y que una vez reducido, origina clorofila a (Salisbury y Ross, *op.cit.*; Thomas *et al.*, *op. cit.*).

IV.10.1. Efecto de la luz en el desarrollo y la senescencia.

El concepto de fotomorfogénesis se divide en tres partes:

- 1) Recepción de la luz mediante los pigmentos.
- 2) Traducción de las señales de la luz, desde los pigmentos a los genes
- 3) La inducción del desarrollo a través de la regulación genética. De las partes anteriormente descritas la más inaccesible es la traducción.

Por otra parte, la luz regula el inicio de la senescencia en muchas especies, a través de la duración de las horas luz en el día, la calidad e intensidad de la misma. La luz roja inhibe la hidrólisis de ARN en papas, además se demostró que retarda la senescencia, evitando la pérdida de clorofila y proteínas, lo anterior señala un efecto cualitativo de la luz en el retraso de la senescencia que involucra al fitocromo (Thimann, *op. cit.*; Goldthwaite y Laetch, 1967).

IV.10.2. Efecto de la luz en la síntesis de clorofila.

La luz promueve la síntesis de clorofila, en las amplitudes de longitud de onda del espectro de luz visible. La luz verde (500 - 600nm) es menos efectiva en incrementar la síntesis de clorofila, que la luz azul (400 - 500nm) y que la luz roja (600 - 700nm). La respuesta al estímulo luminoso a través del incremento en la síntesis, se encuentra determinada por las características heredables (Burton, 1982). El efecto de la luz sobre la síntesis de clorofila y el desarrollo de los cloroplastos resulta en primera instancia de una acción de disparo del pfr (fitocromo rojo-lejano) que origina la producción de ácido delta-aminolevurónico (ALA) a partir de ácido glutámico. El ALA es el precursor metabólico que se convierte en cada uno de los cuatro anillos pirrólicos de la clorofila. Sin embargo, el ALA no se convierte todo en clorofila sin que haya mayores irradiaciones de luz azul o roja. En cambio, la ruta metabólica se detiene cuando se forma un compuesto conocido como protoclorofilida a, la cual difiere de la clorofila a sólo por la ausencia de una cola fitol y en dos átomos de hidrógeno. La protoclorofilida a se reduce con rapidez a clorofila a en presencia de luz azul o roja (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

IV.11. Senescencia.

La senescencia es una secuencia de eventos bioquímicos y fisiológicos, que comprenden el estadio final del desarrollo; desde la fase de la madurez, hasta finalizar con la muerte (Bidwell, *op. cit.*). El proceso de senescencia se caracteriza por una serie de cambios internos y externos (visibles); entre los cuales destaca el amarillamiento, la reducción en la tasa fotosintética, alteraciones en la tasa respiratoria e hidrólisis de polímeros (proteínas, azúcares y ácidos nucleicos). En contraparte, el envejecimiento, se refiere a todos los cambios que ocurren como consecuencia del paso del tiempo y que no concluyen con la muerte como consecuencia directa de este evento; mientras que la senescencia siempre desencadena un proceso que termina en la muerte de una célula u organismo (Smart, 1994).

Se han definido los siguientes tipos de senescencia: monocárpica, secuencial, otoñal. La senescencia monocárpica puede ocurrir como una consecuencia de la reproducción, mientras que la senescencia secuencial, es el resultado de la competencia por recursos entre las hojas maduras basales y las apicales jóvenes. La senescencia otoñal de los árboles deciduos se debe a cambios en la duración del fotoperíodo o por la modificación de la amplitud de las temperaturas estacionales; sin embargo, el inicio de la senescencia ocurre antes de que aparezcan los síntomas visuales obvios, por lo que es posible, que el control molecular de los pasos que se suceden en la senescencia de una hoja, marquen la clave para entender correctamente este proceso (Smart, *op. cit.*). La senescencia foliar requiere de un cierto número de células viables, además de la expresión de nuevos genes (Thomas y Stoddart, 1980). La expresión de esos genes altera el patrón de senescencia, se conocen seis categorías de genes reguladores de la senescencia:

- 1) Genes que controlan las actividades primarias de las células viables (respiración, síntesis de proteínas).
- 2) Genes que se expresan inicialmente, aunque todos sus efectos llegan a ser aparentes posteriormente (*e.g.* genes homeóticos, o proteínas que llegan a ser activas posteriormente (enzimas vacuolares, zimógenos).
- 3) Genes que codifican para el crecimiento o para la asimilación de carbono y sus componentes (genes nucleares y genes de plastidios para las enzimas del ciclo de Calvin y las proteínas tilacoidales)

- 4) Genes regulatorios que se expresan en el inicio de la senescencia considerados como genes causales.
- 5) Genes que codifican para los ARNs, proteínas y enzimas que llevan a cabo la degradación de pigmentos.
- 6) Genes que codifican para proteínas que remobilizan productos almacenados (enzimas de la gluconeogénesis) (Smart, *op. cit.*; Guamet *et al.*, 1990).

IV.11.1. Estudio e importancia de la senescencia.

La senescencia representa un valor positivo para los procesos de sobrevivencia, evolución y reciclaje. Esta puede ocurrir en una época del año, en la que el ambiente se vuelve limitante, debido al frío y a la competencia con otras plantas. El fenómeno de senescencia ocurre en el follaje de los árboles descuidados en el otoño, mientras que algo similar ocurre durante la maduración de frutos. La senescencia del follaje da a la tierra un cambio de apariencia en la coloración (visto esto, desde el espacio por los satélites, ya que se observa una onda de color que va desde el negro verdoso, amarillo, rojo y pardo). Entre 1 o 2 billones de toneladas de clorofila y unos 200 millones de toneladas de carotenoides son degradados anualmente (Hendry, 1988). Durante la senescencia los procesos anabólicos son superados por los procesos catabólicos, éstos incluyen a la degradación de proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos.

Si se pudiera entender o controlar la regulación interna de la senescencia al nivel de genes (trasducción y expresión) sería posible manipular el proceso y buscar reducir las pérdidas en forrajes, pastos, frutos y granos. Algunas otras implicaciones relacionadas con la senescencia incluyen, las pérdidas durante el transporte y la manipulación de algunos productos, por ejemplo en las flores cortadas (Stoddart, 1982); y el ataque de patógenos, que se incrementa si se presenta la senescencia prematura (Matthews, 1991). Otro de los roles de la senescencia es actuar como catalizador de la llamada adaptación evolutiva, ya que ésta llega acompañada por la reproducción, la cual provee una combinación genética en la siguiente generación, además interviene en la dispersión (Leopold, 1961).

La senescencia ha llamado la atención en la biología vegetal, debido a que es un proceso fundamental, para la diferenciación de tejidos especializados como es el caso de los vasos y traqueidas del xilema (del griego $\xi\upsilon\lambda\acute{o}\omega$, lignificarse y -ema). En este caso, la diferenciación de estos elementos del xilema requiere de la senescencia o degradación del protoplasma, para que se forme un espacio hueco que es necesario para el correcto funcionamiento del xilema como un tejido conductor de agua y minerales (Torrey *et al.*, 1971).

IV.11.2. Factores internos y externos que causan la senescencia.

IV.11.2.1. Factores internos.

Entre los factores internos que desencadenan la senescencia se encuentran la competencia por nutrimentos, el sombreado, el estado físico y la reproducción (**Figura 1**). La competencia por nutrimentos (fotosintetizados) ocurre entre los diferentes órganos de las plantas y se conjuga con la pugna por espacio y luz, lo que genera una red de comunicación interna que controla las tasas de crecimiento y formación. En este caso, las hojas se encuentran en una posición más desfavorable, ya que pueden senescer debido a la competencia establecida entre los órganos circundantes (Thomas y Stoddart, *op. cit.*).

Las hojas de las especies monocárpicas pueden vivir por más tiempo si se evita la reproducción sexual. La senescencia del frijol de soya y de las espinacas ha sido dilatada por la remoción de sus flores y frutos. También la reproducción ejerce una fuerte influencia sobre el tiempo de la senescencia en cultivos anuales (Leopold, *op. cit.*).

IV.11.2.2. Reguladores del crecimiento.

La interacción entre los contenidos de los reguladores del crecimiento, propician que éstos participen de forma activa en el control y expresión del síndrome de senescencia (Hurtado, 1987).

La aplicación de cinetina (citocinina), tiene un leve efecto de retardar el síndrome de senescencia, sobre las hojas de *Taraxacum*, pero este efecto es fuertemente inhibido por la aplicación de giberelinas (Fletcher y Osborne, 1966). Las citocininas dilatan la senescencia de las hojas y pueden promover el reverdecimiento en hojas amarillas de muchas especies (Dyer y Osborne, 1971). La aplicación externa de citocininas en un área localizada de una hoja, puede retardar el amarillamiento (Richmond y Lang, 1957).

Por otra parte, las auxinas pueden ser hábiles en retardar el síndrome de senescencia. Por ejemplo, el ácido naftalenoacético, retarda la senescencia de *Rhoeo* y *Mesembryanthemum* en segmentos de hoja. Sin embargo otras fitohormonas y sustancias, como el etileno, ácido abscísico, jasmonatos, poliaminas y silicatos, comúnmente actúan como promotores de la senescencia y su efecto aún está bajo estudio (Smart, *op. cit.*).

IV.11.2.3. Factores externos.

Entre los factores externos que influyen en la senescencia destacan: el fotoperíodo (duración de las horas de luz en el día), el flujo de luz (calidad de luz) y la exposición a temperaturas extremas altas o bajas (Figura 1) (Caers *et al.*, 1985). También el agua y las relaciones minerales participan en el desarrollo de la senescencia, las aguas salinas incrementan la senescencia en hojas de *Heliantus* y *Nicotiana*, la cual se acompaña por la degradación de proteínas (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

Otro de los factores a considerar, es la invasión por patógenos, ya que pueden acelerar la senescencia o prevenirla *e.g.* las islas verdes en *Nusty mildew* (Smart, *op. cit.*).

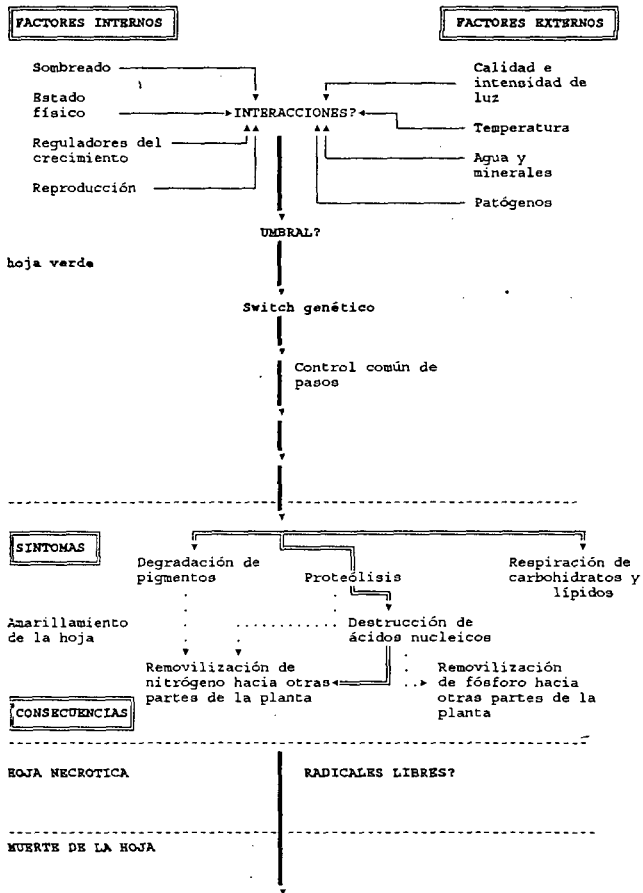


Figura 1. Factores implicados en la iniciación de la senescencia (Smart, 1994).

IV.11.3. Reversibilidad de la senescencia.

La remoción del ápice del tallo y las hojas jóvenes de algunas plantas tales como la *Nicotiana*, dilata la senescencia. La aplicación de citocininas revierte la senescencia (Leopold y Kawase, 1961; Thimann, 1980; Jordi *et al.*, 1994). La luz puede revertir la senescencia en hojas separadas de la planta que estuvieron por un corto tiempo en la obscuridad. El efecto de la luz es menos notable conforme se incrementa el tiempo de permanencia en la obscuridad (Vonsahak y Richmond, 1975). Es posible revertir la senescencia en estadíos tempranos o iniciales del proceso, mientras no se rebase el punto de no retorno en el proceso (Figura 2). La senescencia puede ser el resultado de una baja en la tasa fotosintética teniendo como consecuencia un efecto en los niveles de ATP y carbohidratos (Thimann *et al.*, 1977). Se ha propuesto que las señales de maduración suprimen la expresión de los genes fotosintéticos en las hojas, acarreado consigo la declinación en la tasa fotosintética y la desrepresión de genes asociados con la senescencia (García, 1991; Hensel *et al.*, 1993).

IV.11.3.1. Teoría del decaimiento.

En este modelo, se propone que el umbral comprende un deterioro en el proceso de defensa interno contra los radicales libres; con ello el sistema de detoxificación declina y la senescencia es visible, también puede ser medido bioquímicamente por los síntomas que presenta el síndrome (Smart, *op. cit.*).

IV.11.4. La senescencia en los organelos.

El cloroplasto es uno de los sitios primarios del catabolismo en la senescencia, cuando éstos se tornan amarillos debido a la degradación de la clorofila, exponiendo a los carotenoides. Los cloroplastos senescentes pueden transformarse en cromoplastos, sin embargo los cromoplastos, también pueden originarse de protoplastidios, amiloplastidios o cloroplastos jóvenes los que todavía pueden dividirse, sintetizar carotenoides y retener su genoma (García, *op. cit.*; Neri *et al.* 1993).

HOMEOSTASIS

ACLIMATACION

CATASTROFE

Nueva expresión
de genes

Radicales
libres

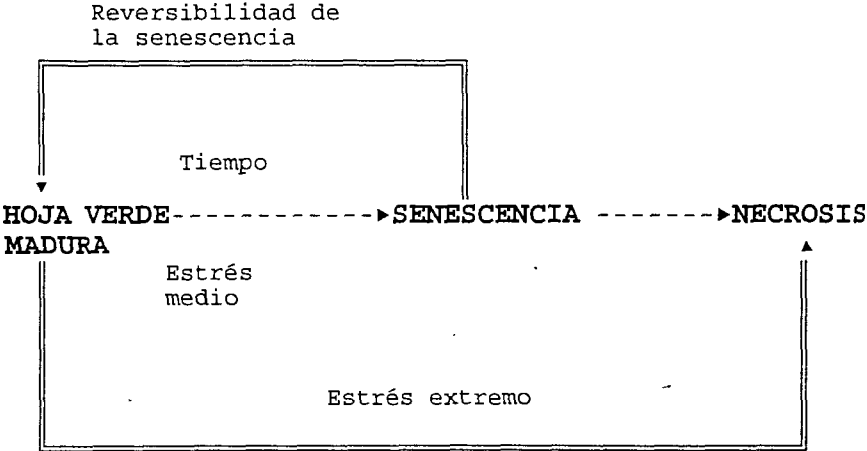


Figura 2. Propuesta sobre las relaciones entre la senescencia y necrosis (Smart, 1994).

En contraste, los cloroplastos senescentes se desarrollan sólo a partir de cloroplastos maduros, los cuales no pueden dividirse, retener el ADN ni mostrar capacidad bioquímica. Estas diferencias han dado lugar al término «gerontoplasto», para describir la senescencia del cloroplasto (Sitte, 1977). No obstante la mitocondria permanece intacta hasta estadios altamente avanzados de la senescencia (Peoples *et al.*, 1980), por ello se mantiene una gran tasa respiratoria durante los estadios tempranos de la senescencia (Sexton y Woolhose, 1984). Cabe señalar que cerca del 20% de la tasa respiratoria puede ser atribuida a la respiración de aminoácidos, y una pequeña parte de ésta tasa puede ser asignada a la respiración de azúcares solubles. Sin embargo, el resto puede ser causado por el desacoplamiento del proceso de respiración desde la fosforilación (Tetly y Thimann, 1974).

IV.11.5. Degradación de pigmentos en la senescencia.

Durante la senescencia, el amarillamiento es el síntoma más obvio. La combinación; luz, oxígeno y clorofila produce radicales libres, con un potencial altamente destructivo que degradan tanto a la clorofila, como a la compartimentalización (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

Los carotenoides y demás pigmentos accesorios son más estables que la clorofila durante la senescencia (Thimann, 1980). Es por ésto que predominan la conservación de pigmentos amarillos, sobre la retención de pigmentos verdes (Matile, 1992).

IV.11.6. Similaridades entre la senescencia de hojas y frutos.

Durante la senescencia de las hojas y los frutos ocurren eventos similares, ya que se presentan incrementos en la actividad de las enzimas hidrolíticas. El aparato fotosintético es desmantelado, el almidón y la clorofila son degradados; se estimula la respiración y en algunos casos se produce etileno. Se sugiere que la senescencia de las hojas y la maduración de frutos, involucran una expresión común de genes (Smart, *op. cit.*).

IV.11.7. Degradación, senescencia y pérdida de proteínas de partes reproductivas y vegetativas en cultivos y alimentos cosechados.

Con la edad, las hojas empiezan a tener una declinación en la habilidad de sintetizar proteínas, lo cual es atribuido a un posible incremento en la tasa de degradación. También la síntesis llega a ser disminuida si el material vegetal es almacenado previamente en la obscuridad (Martin y Thimann, 1972).

IV.11.7.1. Cambios en las estructuras lipídicas.

En cereales y nueces pueden ser importantes los cambios en sus lípidos ya que el enranciamiento es un producto de ellos. La destrucción de los lípidos también repercute en las membranas por contenerlos en su estructura. La hidrólisis de las grasas mediada por lipasas (las cuales son esterases) ocurre de manera común, aunque de forma leve durante el almacenaje de cereales y nueces. Al ocurrir ésta se liberan ácidos grasos y glicerol, los cuales son transformados posteriormente finalizando en la vías metabólicas de formación de azúcares o en los ciclos de la respiración (Burton, 1982).

IV.11.7.2. Cambios en el contenido de clorofila.

La pérdida de clorofila es irrelevante por sí misma en los alimentos cultivados, pero es indicativo de que otros cambios están ocurriendo y es la señal visible de que los vegetales han sido almacenados por largo tiempo, lo cual se puede emplear como un índice de aceptabilidad en el área comercial (Burton, *op. cit.*).

La degradación de clorofila se puede disminuir si los alimentos son expuestos a la luz al ser almacenados. El retraso de la degradación de clorofila en el material almacenado, se debe a que el vegetal continua funcionando bajo el estímulo luminoso, por lo que se presenta una baja susceptibilidad a la degradación promovida por las enzimas del cloroplasto, además la degradación de clorofila en la obscuridad se debe a que la enzima que la sintetiza ha perdido el sustrato que requiere (Shimizu y Tamaki, 1963).

Cuando se corta una hoja madura pero todavía activa, esta comienza a perder clorofila, ADN, proteínas y lípidos con mayor rapidez que la que tendría normalmente cuando estaba unida a la planta. Este envejecimiento prematuro o senescencia evidente por el amarillamiento de la hoja, ocurre con especial rapidez si las hojas permanecen en la oscuridad (Park y Thiman, 1989).

La iluminación promueve el desarrollo de los cloroplastos desde protoplastidios citoplásmicos, estimulando la síntesis de clorofila, también es posible que el fitocromo este involucrado, el ejemplo clásico entre los alimentos cultivados lo constituyen las papas (Cuadro 1), las cuales reverdecen si son expuestas por ciertos períodos a la luz, mientras son empaquetadas en plásticos (Tiang, 1994; Jordi *et al.*, *op. cit.*).

Cuadro 1. Efecto de la temperatura sobre la síntesis de clorofila, en la luz (1000-1100 lux) y su subsecuente retención en la oscuridad, en tubérculos de papa (Burton, 1982).

| Temperatura °C | Clorofila total (mg/100 g de peso fresco) | |
|-------------------|---|---|
| | Después de 16 días de iluminación. | Después de 33 días en la oscuridad, subsecuentes a los 16 días de iluminación. |
| 2 | 0.5 | 0.5 |
| 5 | 2.4 | 2.4 |
| 10 | 4.6 | 5.4 |
| 15 | 10.2 | 8.6 |
| 20 | 9.2 | 8.8 |

IV.12. Senescencia: el Ambiente y los Genes.

Todos los procesos bioquímicos que determinan la forma y la función de las plantas, son el resultado de información codificada en la secuencia del ADN del genoma y de la interacción de ésta con el ambiente (Salisbury y Ross, *op. cit.*). La cual es transformada en actividad

bioquímica y en la estructura macromolecular resultante de la planta, a través de la biosíntesis de enzimas o proteínas específicas vía transducción y transcripción (Thomas *et al.*, *op. cit.*).

IV.12.1. Genes regulados por la luz.

Las respuestas como apertura de estomas y los movimientos de las hojas, son muy rápidos, y es más probable que sean el resultado del efecto de la luz, sobre un proceso molecular controlado por genes ya expresados. No obstante la manera en que los fotorreceptores propician la fotomorfogénesis aun no se entiende, sin embargo se cree que existen dos formas establecidas con base en la rapidez de acción; una puede ser un efecto rápido sobre la permeabilidad de membrana, la otra consistiría en un efecto más lento sobre la expresión genética. En la actualidad la investigación sobre el control de la expresión de los genes avanza con gran rapidez, aunque dicho control quizá depende a menudo de los efectos anteriores inducidos por la luz sobre los cambios en la permeabilidad de la membrana, éstos influyen en el flujo de iones (en especial Ca^{2+}) a través de la membrana plasmática, tonoplasto, retículo endoplásmico o envoltura nuclear (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

La luz llega a afectar otros procesos fisiológicos al controlar la actividad de genes específicos y de alguna forma la expresión directa de los genes que codifican para proteínas (en las plantas tratadas con luz aparecen RNAm únicos). La expresión de varios genes que codifican para diversas proteínas en ciertas especies se encuentra regulada por la luz *e.g.* la subunidad grande y pequeña de la Rubisco, la proteína enlazadora de la clorofila a/b, la proteína de 32Kdn aceptora de electrones del fotosistema II, la PEP carboxilasa, la 3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa, el fitocromo y la diquinasa de fosfato y piruvato (Salisbury y Rose, *op. cit.*).

La senescencia de las hojas en la luz tiene un curso más lento que en la obscuridad, posiblemente por una consecuencia de la intercepción de la luz en hojas superiores, afectando tanto la intensidad como la calidad de ésta, debido al sombreado. También las hojas separadas de las plantas expuestas a la luz senescen a una velocidad más lenta que las que se conservan en obscuridad, las diferencias entre la tasa de senescencia de hojas que permanecen unidas a la planta y la de hojas separadas, se atribuyen a la reducción en el contenido de carbohidratos. Sin embargo, Cinhball en 1939 encontró que no hay relación directa entre los carbohidratos solubles

en la hoja y el comienzo de la senescencia. Después Segiura en 1963, demostró que el retardo de la pérdida en el contenido de proteínas y de clorofila en discos de hojas de tabaco por luz roja, fue superado a través de la iluminación con luz rojo lejano, con lo que se involucró al pigmento fitocromo.

En la obscuridad, los procesos catabólicos de los compuestos orgánicos son más acelerados. Por ejemplo, en las hojas de *Arabidopsis thaliana* sometidas a la obscuridad, hubo disminución de pigmentos, siendo ésta, paralela a la pérdida de proteínas solubles; la clorofila se degradó más rápido que los carotenoides (De Kok y Graham, 1989).

IV.12.2. Genes regulados por la temperatura.

La temperatura puede interactuar con otras variables ambientales, como la baja intensidad de luz y conducir hacia una respuesta probable de senescencia. El estrés por calor acelera el proceso de senescencia. En los vegetales se producen dos tipos de proteínas (hps): de peso molecular alto (70 a 95 Kda) y otras de peso molecular bajo (15 a 30 Kda). Cuando se incrementa la temperatura, se dispara la síntesis de hps, mientras que la de otras proteínas disminuye (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

Las hps tienen una participación importante de protección, particularmente en el período de transición o de ajuste posterior a la exposición a éstas temperaturas y posiblemente puedan evitar daños durante ciclos breves, algunas hps han sido identificadas como proteasas (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

IV.12.3. Genes regulados por las hormonas.

La regulación ambiental de los genes que controlan la biosíntesis de hormonas, representa un mecanismo poderoso para controlar el desarrollo vegetal, ya que la combinación específica, en cantidades relativamente particulares de hormonas, controlan y determinan la morfogénesis vegetal (Skoog y Miller, 1957). El modo de acción de las hormonas vegetales, es a través de señales de cambio generalizadas, que se activan cuando se lleva a cabo su unión con un receptor específico, presente sólo en algunas células o tejidos. Esta respuesta que involucra a la

expresión génica depende de la presencia de los receptores en el tejido. Sin embargo, muchas de las respuestas fisiológicas ocurren por un efecto directo de las señales ambientales y hormonales, que no implican necesariamente algún cambio inducido por la expresión génica, incluso serían el resultado de la interacción del ambiente o la hormona con un receptor específico (bioquímicamente activo), que no interactue con el ADN. El gene que codifica para dicho receptor generalmente es controlado por el ambiente y solo se activa en los tejidos en un determinado momento, de la misma forma en que los receptores interactúan con el ADN y controlan la expresión génica.

Por otro lado, se ha encontrado evidencia sobre genes cuya expresión es controlada por las AG, AIA, ABA y etileno, en los tejidos de varias especies de plantas (Salisbury y Ross, *op. cit.*).

IV.13. Fitohormonas.

Went y Thimann (*fide* Hurtado, *op. cit.*) definen a las fitohormonas como aquellas sustancias producidas en cierta parte de la planta, que luego son transferidas hacia otro sitio y en este lugar influyen un proceso fisiológico específico

IV.13.1. Citocininas.

La formación de raíces adventicias en la base del peciolo demora la senescencia de la hoja separada de la planta. Al parecer las raíces aportan algo a la hoja que la mantiene fisiológicamente joven, es probable que ese factor contenga una citocinina la cual es transportada de la raíz a las hojas a través del xilema (Salisbury y Rose, *op. cit.*).

En experimentos en los que se promovió la disminución de citocininas producidas en las raíces, tales como estrés por agua o deficiencia mineral, se indujo la senescencia de las hojas (Colbert y Beever, 1981). Mostrando con ello que la capacidad de las citocininas de retardar la senescencia está relacionada con su influencia en una gran variedad de procesos metabólicos (Figura 3) (Richmond y Lang, *op. cit.*). Caers *et al.* (1985) encontraron que un shock de 47°C

por 2 minutos a las raíces de maíz, disminuía el contenido de citocininas inhibiendo la actividad fotosintética y la acumulación de clorofila. Estos efectos fueron revertidos mediante la aplicación de benciladenina. Otras líneas de investigación han señalado la participación de las citocininas en la expresión y control de genes.

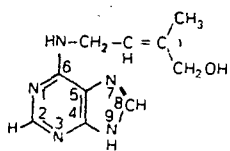
Kenneth V. Thimann (1980), investigó extensamente como las citocininas retardan la senescencia en hojas separadas de la planta de avena, mediante una serie de experimentos en los cuales la adición de citocininas en la solución en que flotan las hojas reemplazan el efecto de la luz demorando la senescencia, es decir las citocininas mantienen la integridad de la membrana del tonoplasto, evitando que las proteasas de la vacuola central escapen hacia el citoplasma, hidrolizando a las proteínas de la membrana del cloroplasto y mitocondrias. Asimismo, Leshem (1988) ha encontrado evidencias que sugieren que las citocininas protegen a las membranas contra la degradación. Sus resultados revelan que las citocininas actúan evitando la oxidación de los ácidos grasos no saturados de las membranas, de igual forma inhiben tanto la formación, como la descomposición acelerada de radicales libres como el superóxido (O_2) y el oxidrilo (OH) (Thompson *et al.*, 1987; Leshem, *op. cit.*). La adición de citocinina a hojas etioladas, horas antes de ponerlas a la luz tiene dos efectos principales; favorecer el desarrollo (en la luz) de los etioplastos para formar cloroplastos e impulsar la formación de la grana, a la vez que se incrementa la velocidad en la formación de la clorofila (Parthier, 1979).

IV.14. Inhibidores de la Expresión Nuclear.

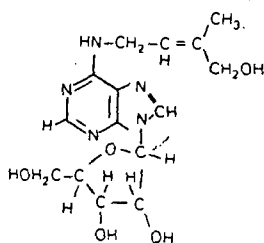
Se han realizado múltiples estudios que involucran inhibidores de la expresión nuclear sobre la senescencia y se ha concluido que este proceso depende más de la expresión del genoma, que del efecto producto de la herida o separación del material vegetal de la planta original (Thimann, 1980; Park y Thimann, 1990).

Cuando se utiliza inhibidores de la expresión nuclear se ha logrado retardar la senescencia y en estudios más recientes se detectó a genes nucleares y citoplásmicos reducen los efectos de la senescencia con respecto a la pérdida de clorofila (Guamet *et al.*, *op. cit.*).

citocininas naturales

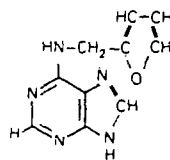


zeatina
peso mol. = 219.2 g/mol

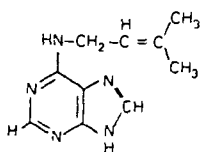


ribósido de zeatina o
ribosil zeatina

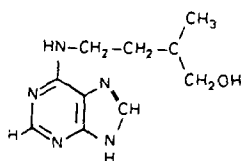
citocininas sintéticas



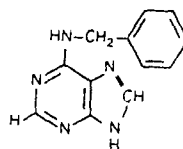
cinetina
(sintética)



isopentenil adenina



dihidrozeatina



benziladenina
(traza en vegetales)

Figura 3. Estructuras de las citocininas más comunes, naturales y sintéticas (Salisbury y Ross, 1994).

IV.14.1. Cicloheximida.

La cicloheximida (**CH**) es un inhibidor de la expresión nuclear a nivel de la traducción en el citoplasma. Se han encontrado evidencias sólidas que lo describen como un poderoso inhibidor del acceso de la senescencia en la obscuridad. La **CH** redujo la pérdida de la clorofila, en hojas de *Anacharis canadensis* en la obscuridad (Thimann, *op. cit.*). No obstante que la aplicación de cicloheximida (10 mg/L) en *Anacharis* se lleva a cabo 7 días después de iniciado el proceso de senescencia.

Con base en lo anterior se sugiere que las proteínas o enzimas que se sintetizan durante la senescencia, se transforman en proteasas considerablemente activas. Ya que de este modo las enzimas pueden preferentemente actuar en la remoción del peróxido acumulado, liberando o retirando a los radicales libres oxidativos a los que la clorofila es susceptible (Thimann, *op. cit.*)

IV.14.2. Cloramfenicol.

Otro inhibidor de la síntesis protéica es el cloramfenicol, que actúa sobre los ribosomas de los cloroplastos. Dentro de la investigación mencionada anteriormente, no tuvo un efecto significativo en el retardo del síndrome de senescencia, mientras que con la **CH** si, ésto nos indica que la degradación a través de enzimas y la senescencia posterior se originan en el citoplasma. La inhabilidad del cloramfenicol para controlar la pérdida de clorofila a través de enzimas, contrasta con el poderoso efecto de la **CH** para promover la formación de clorofila (Thimann, *op. cit.*).

V. MATERIALES Y METODOS.

V.1. Material Vegetal y Procedencia.

En este trabajo se utilizaron ramas de pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum) de 7 a 10 años colectadas de una población silvestre ubicada al Oeste de Zacoalco de Torres, a los 20°13'30" latitud Norte y a los 103°35' latitud Oeste. Las ramas fueron plantadas en los jardines aledaños al edificio del Departamento de Biología Molecular, del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. Estas, tuvieron un peso fresco en promedio de 7826.2g, una longitud de 1.5m y un diámetro promedio de 11.2cm. El criterio de elección de las ramas fue el vigor, representado por las siguientes características: color verde brillante, robustez y sin daños visibles causados por parásitos y factores naturales adversos.

V.2. Establecimiento de los Experimentos.

Las ramas de pitayo fueron lavadas con agua corriente y jabón evitando dañar la epidermis. Posteriormente las espinas fueron retiradas. Cada rama fue seccionada en pedazos de una longitud aproximada de 20cm, bajo máximas condiciones asépticas. Los segmentos (5mm de diámetro x 9cm de largo) fueron extraídos de la parte interna de la costilla de las ramas del pitayo e influyeron tejidos de parénquima medular y clorénquima.

En la primera evaluación se colocaron 5 segmentos por caja de petri estéril y a c/u de ellas se aplicaron 10 mL de benciladenina (BAP) (Sigma B-9395) a distintas concentraciones: 10^{-5} , 10^{-7} y 10^{-9} M y un tratamiento testigo en el que se aplicó agua estéril. Se utilizaron dos cajas de petri por unidad experimental, 8 unidades experimentales por fecha de análisis, con cuatro repeticiones. Dando un total de 32 unidades experimentales. Estos mismos tratamientos se aplicaron en ramas que habían sido cubiertas con papel aluminio hasta que en estas se registró una disminución del 50% de los gránulos de almidón al momento de cubrirlos (el porcentaje de gránulos de almidón en los cloroplastos de los tejidos, fue establecido al cuantificar el número de cloroplastos activos a la tinción con lugol. En un corte de tejido observado al microscopio

óptico con 400 aumentos, y con muestra mínima de 10 campos): Un tercer experimento con las mismas concentraciones de **BAP**, se llevó a cabo en cilindros que se colectaron de ramas que fueron cubiertas con papel aluminio hasta que en éstas se redujo el porcentaje de gránulos de almidón a un 0%.

En la segunda parte de estos experimentos se evaluó el efecto del inhibidor de genes nucleares denominado cicloheximida (**CH**) (Sigma C-0934) y se empleó a las siguientes concentraciones (10^{-3} , 10^{-5} y 10^{-7} M) en segmentos de pitayo. Para facilitar la absorción de este inhibidor se adicionó a las soluciones de **CH** el surfactante tween (2%).

Durante el desarrollo de los experimentos se registró la intensidad de luz para ello se empleó un sensor cuántico LI-COR modelo LI-189 y las temperaturas diarias se tomaron con un termómetro de máximas y mínimas.

En los experimentos en los que se evaluó tanto el efecto de **BAP** como de **CH**, un grupo de cajas de petri se mantuvo en la condición de luz y otro grupo similar se colocó en obscuridad, cubriendo las cajas de petri con papel aluminio. Por lo que ambas condiciones (luz y obscuridad) fueron establecidas de forma idéntica en cada uno de los experimentos realizados.

En el momento en que se iniciaron los experimentos con **BAP** se colectaron los segmentos en los que se llevó a cabo la extracción y determinación del contenido de clorofila (Arnon, 1949). Así como el aislamiento de cloroplastos para determinar su viabilidad (Castelfranco, op. cit.). Esto se realizó con el fin de obtener los valores basales iniciales de los tejidos en tratamiento. A partir de esta fecha se tomaron muestras de segmentos cada 24 horas en cada tratamiento, hasta que los segmentos experimentales mostraron síntomas avanzados de senescencia. En el caso de la evaluación del efecto con **CH**, se llevaron a cabo las mismas determinaciones, sin embargo las muestras se tomaron cada 2 días.

Además a lo largo del desarrollo experimental se registraron los cambios en la coloración y forma de los segmentos de las ramas de pitayo, los cuales se consideraron como signos visuales característicos del avance del proceso.

V.3. Descripción de la Metodología para Determinar el Contenido de Clorofila y la Viabilidad de Cloroplastos.

V.3.1. Extracción y determinación del contenido de clorofila.

A 2 g de tejido se le adicionó 8 mL de acetona fría (80%), se homogenizó con la ayuda de una varilla de cristal. El homogeneizado se centrifugó a 12 000 g (centrífuga Beckman J2-21) por 10' a -4°C. El sobrenadante se colectó en una probeta fría, cubierta con papel aluminio. Al precipitado se le agregó 8 mL de acetona fría (80%) y se centrifugó usando la misma velocidad y tiempo mencionados previamente. De la mezcla de sobrenadantes se tomó una alícuota (4 mL), la cual se empleó para medir la absorbancia a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro (Sequoia Turner modelo 340).

Con las lecturas obtenidas en ambas longitudes de onda se calculó el contenido de clorofila total, *a* y *b*, empleando la fórmula desarrollada por Bruinsma (1961).

$$\text{Clorofila total} = 8.02 (A_{663\text{nm}}) + 20.2 (A_{645\text{nm}}) = \mu\text{g /mL}$$

$$\text{Clorofila A} = 12.7 (A_{663\text{nm}}) - 2.59 (A_{645\text{nm}}) = \mu\text{g /mL}$$

$$\text{Clorofila B} = 22.9 (A_{645\text{nm}}) - 4.68 (A_{663\text{nm}}) = \mu\text{g /mL}$$

Posteriormente, se relacionaron los $\mu\text{g/mL}$ de clorofila con los gramos de peso fresco de tejido para calcular el contenido de clorofila en $\mu\text{g/g}$ de peso fresco.

V.3.2. Aislamiento y determinación de la viabilidad de cloroplastos.

Se emplearon 5 g de tejido, los cuales se cortaron en trozos pequeños, y se les adicionó 25 mL de medio de aislamiento (fosfato de sodio mono y dibásico 0.05 M a un pH 6.8; sacarosa 0.34 M y cloruro de potasio 0.01 M). El tejido se homogeneizó dos veces en una licuadora doméstica por dos lapsos de 15 segundos a máxima velocidad. El homogeneizado se filtró a través de 4 capas de manta de cielo. El filtrado se centrifugó a 27,000 g a 2°C por 30'. Se eliminó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en 12.5 mL de medio de aislamiento.

Se agitó cuidadosamente (con la ayuda de un pincel de pelos de camello) y se centrifugó a 12,000 g (2°C) por 20'. Finalmente se descartó el sobrenadante y al precipitado se le agregó 10 mL de medio de aislamiento, para obtener una suspensión de cloroplastos.

Enseguida, se procedió a realizar la evaluación espectrofotométrica de la reacción de Hill, para ello se tomaron 2 mL de suspensión de cloroplastos y se colocaron en una cubeta del espectrofotómetro cubierta con papel aluminio, a ésta se le agregó 0.0020 g de ácido ascórbico y 1 mL de DCPIP (2,6-Diclorofenol-indofenol) 0.12mM; esta preparación sirvió como blanco. En una segunda cubeta se adicionaron 2 mL de suspensión y 1 mL de DCPIP y se empleó para medir la integridad de la membrana de los cloroplastos, para tal fin se iluminó directamente con una lámpara de luz incandescente con una energía potencial de $192 \mu\text{moles m}^2 \text{ s}^{-1}$. Cada 2 minutos se registró la absorbencia a 620 nm, hasta que se llevó a cabo una reducción superior al 80% del DCPIP. Con los resultados obtenidos se calcularon los $\mu\text{moles de DCPIP reducidos/mg de clorofila/ h}^{-1}$ (Castelfranco, *op. cit.*).

V.4. Análisis Estadístico.

Se empleó un diseño completamente al azar (Martínez, 1988). Se obtuvo media, desviación y error estándar, además se aplicó la prueba T de Students para determinar las diferencias entre los tratamientos por medio del programa de estadístico SAS (Camacho *et. al.*, 1982). Y se realizó el análisis de correlación lineal.

VI. RESULTADOS.

VI.1. Observaciones Visuales del Proceso de Senescencia.

En los experimentos realizados, fueron observados los cambios en la coloración del tejido los cuales se expresaron por la disminución gradual del color verde con el transcurso del tiempo, lo que indirectamente indicó la degradación de clorofila siendo más evidente en la condición de luz que en oscuridad, además se observó una coloración rojiza en los segmentos particularmente en la condición de luz en los tejidos con mayor contenido de almidón.

VI.2. Análisis de las Variables Ambientales luz y Temperatura.

El primer experimento (tejidos con **100%** de almidón) duro ocho días, en él, la mitad de las cajas de petri fueron colocadas bajo un régimen constante de luz de $42 \pm 1.92 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una temperatura de $29^{\circ}\text{C} \pm 2.12$. El segundo experimento (tejidos con **50%** de almidón) duro 4 días y el promedio de $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue de 41 ± 0.38 y la temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 0.57$. Por su parte, el tercer experimento (tejidos con **0%** de almidón) duró 4 días, bajo un promedio de $46 \pm 0.49 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una temperatura de $27.7^{\circ}\text{C} \pm 0.67$. En el cuarto experimento (**CH**) el promedio de $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue de 41 ± 0.74 y la temperatura de $32.5^{\circ}\text{C} \pm 0.45$ en los ocho días que duro el experimento.

VI.3. Efecto de la Benciladenina (**BAP**) en la Senescencia de Segmentos de Pitayo con Diferentes Contenidos de Almidón.

La evaluación del efecto de diferentes concentraciones de **BAP** en segmentos de pitayo con diferentes contenidos de almidón (**100%**, **50%** y **0%**), en condiciones de luz y oscuridad, reveló que en todos los casos se presentó una reducción significativa del contenido de clorofila total durante los primeros 2 días, sin embargo; esta disminución es superior en los tejidos con el mayor porcentaje de almidón (**100%**) (**Figura 4(I)**), que en los que tenían una menor cantidad de éste polímero (**Figuras 4(II)** y **4(III)**).

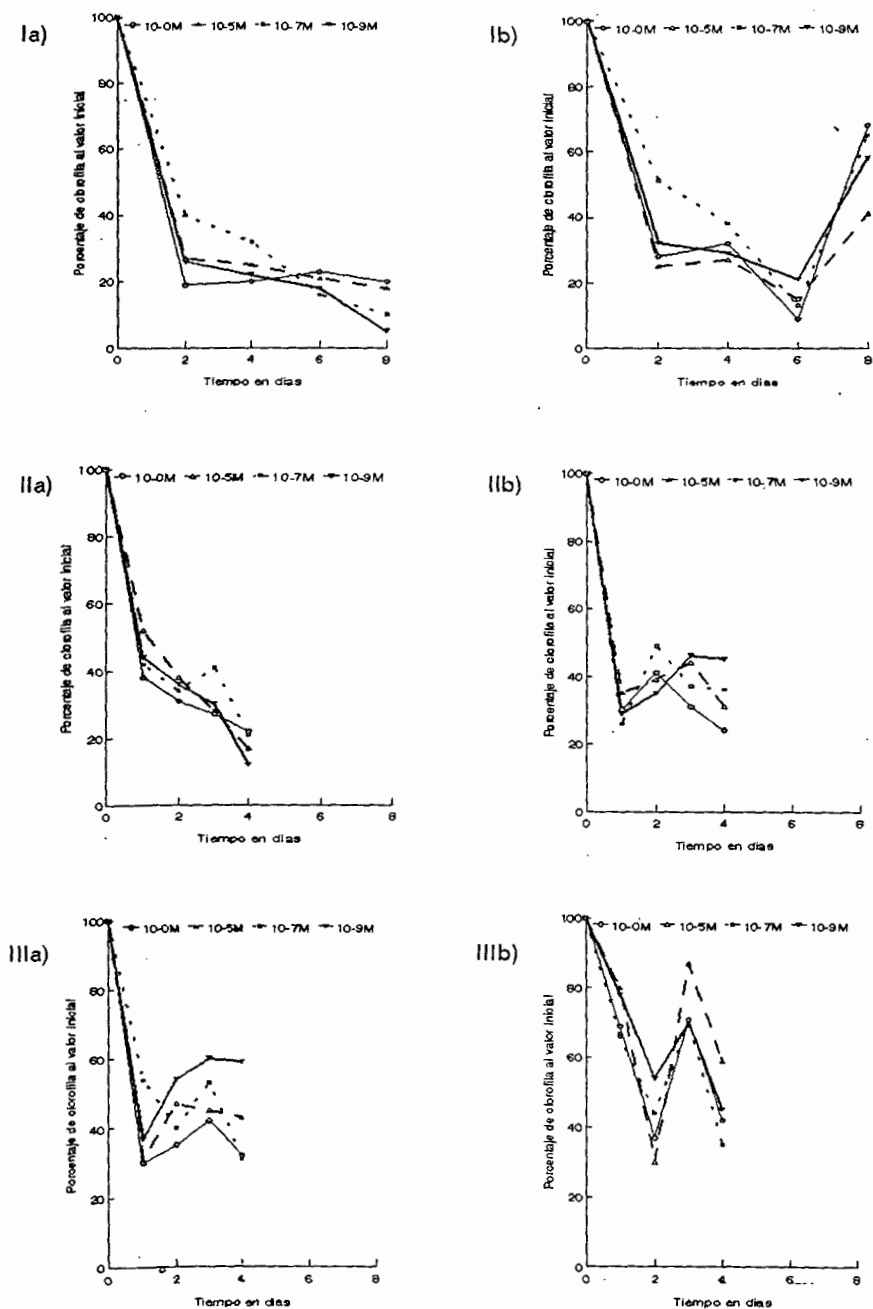


Figura 4. $\mu\text{moles de DCIPH} \cdot \text{mg de clorofila} \cdot \text{h}^{-1}$ en segmentos de *Stenocereus queretaroensis* con diferentes contenidos de almidón I) 100%, II) 50% y III) 0% bajo las condiciones de a) luz y b) obscuridad con distintas concentraciones de BAP.

En la condición de obscuridad resultó ser más lenta la degradación de clorofila que en luz, particularmente en los segmentos con el 0% de almidón (**Figura 4(III a y b)**). Después de dos días para los tratamientos que duraron 8 días y de un día para los tratamientos que duraron cuatro días, la reducción de este pigmento fue más lenta en las distintas concentraciones de BAP, con lo cual se incrementó la cantidad de clorofila alcanzando un 90% del valor inicial. El tratamiento testigo en la condición de luz perdió entre el 60 y el 75% de clorofila en los cilindros con 100% y 50% de almidón (**Figuras 4(Ia) y 4(IIa)**). Mientras tanto en tejidos con el mismo contenido de almidón pero en obscuridad, disminuyó la degradación de clorofila después de 2 días (**Figura 4(Ib)**) y en el tratamiento con 0% de almidón se incrementó la cantidad de clorofila (**Figura 4(IIb)**).

VI.4. Efecto de la Aplicación de Cicloheximida (CH) en la Senescencia y Contenido de Clorofila, en Segmentos de Ramas de Pitayo.

Es importante señalar que la aplicación de CH mostró efectos más evidentes en el retraso de la senescencia que los observados con BAP. El porcentaje de clorofila es superior en las diferentes concentraciones de CH (10^{-3} y 10^{-5} M, 60 y 70% respectivamente) que el porcentaje de clorofila en el tratamiento testigo (30%) (**Figura 5**). En este experimento se encontraron diferencias entre las tasas de degradación de clorofila en las condiciones de luz y obscuridad, después de dos días siendo menor la degradación de clorofila en obscuridad (**Figura 5b**).

VI.5. Análisis del Contenido de Clorofila a y b.

La clorofila a resultó ser la más estable en aquellos tejidos que preservaron por un período mayor de tiempo la viabilidad de los cloroplastos. En el experimento con CH las concentraciones 10^{-3} M y 10^{-5} M conservaron una mayor cantidad de clorofila a, en la condición de obscuridad y siempre fue mayor que los valores presentados por el testigo (**Cuadro 13**), mientras que en los experimentos con BAP y los distintos porcentajes de almidón en los tejidos,

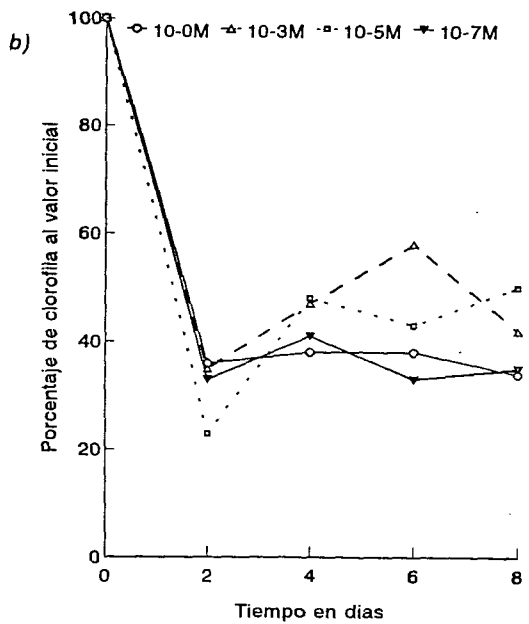
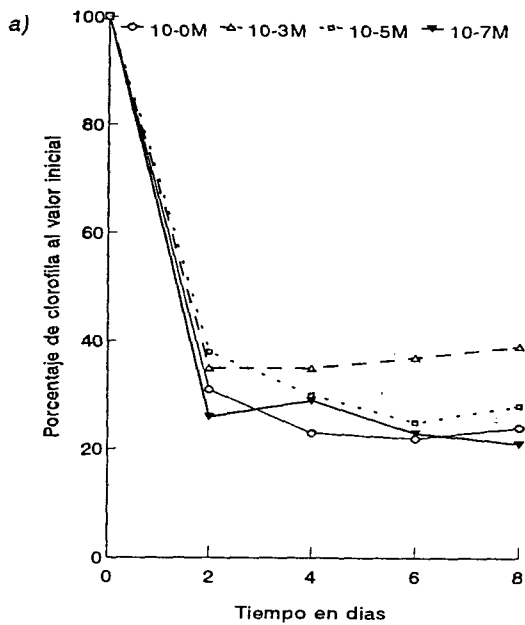


Figura 5. Porcentajes de clorofila en segmentos de *S. queretaroensis* en las condiciones de a) luz y b) obscuridad, con diferentes concentraciones de (CH)

la clorofila **a** se conservó por encima de la clorofila **b** en el experimento con el **0%** de almidón en las concentraciones $10^{-7}M$ y $10^{-9}M$; superando las cantidades encontradas en el tratamiento testigo (**Cuadro 12**). La clorofila **a** en los experimentos con **BAP 50%** y **100%** de almidón se conservó más que la clorofila **b** aunque las cantidades son menores que en el experimento con **BAP 0%** de almidón (**Cuadros 11 y 10**).

VI.6. Efecto de la Aplicación de Benciladenina (**BAP**) en la Viabilidad de Cloroplastos de Tejidos con Diferentes Contenidos de Almidón.

La evaluación del efecto de **BAP** a diferentes concentraciones, en la viabilidad de los cloroplastos de células de parénquima y clorenquima de pitayo con diferentes contenidos de almidón (**100%**, **50%** y **0%**), en las condiciones de luz y oscuridad, mostró que **BAP** preserva la viabilidad de los cloroplastos en los tejidos bajo tratamiento, sin embargo, el índice de reducción del DCPIP es inferior en los tejidos con el mayor porcentaje de almidón (**100%**) (**Figura 6(I)**), que en los tejidos que tenían una menor cantidad de este polisacárido (**Figura 6(II)** y **6(III)**).

En la condición de oscuridad se preservó por más tiempo la integridad de las membranas de los cloroplastos, particularmente en los cilindros con el **0%** de almidón (**Figura 6(IIIb)**). En donde la respuesta es clara desde el inicio, y la concentración $10^{-9}M$ destaca entre los diferentes tratamientos superando al tratamiento testigo. Por otro lado, en los segmentos con **100%** y **50%** de almidón bajo esta misma condición, se aprecia la respuesta en la concentración $10^{-9}M$, sin embargo esta no es lo suficientemente clara (**Figuras 6(I)** y **6(II)**).

VI.7. Efecto de la Aplicación de Ciclohexitida (**CH**) en la Viabilidad de Segmentos de Ramas de Pitayo.

El experimento con **CH** mostró que las concentraciones $10^{-3}M$ y $10^{-5}M$ preservaron la viabilidad de los cloroplastos por más tiempo que en el tratamiento testigo, en ambas condiciones ambientales, sólo que en este experimento la respuesta es superior en la luz presentando

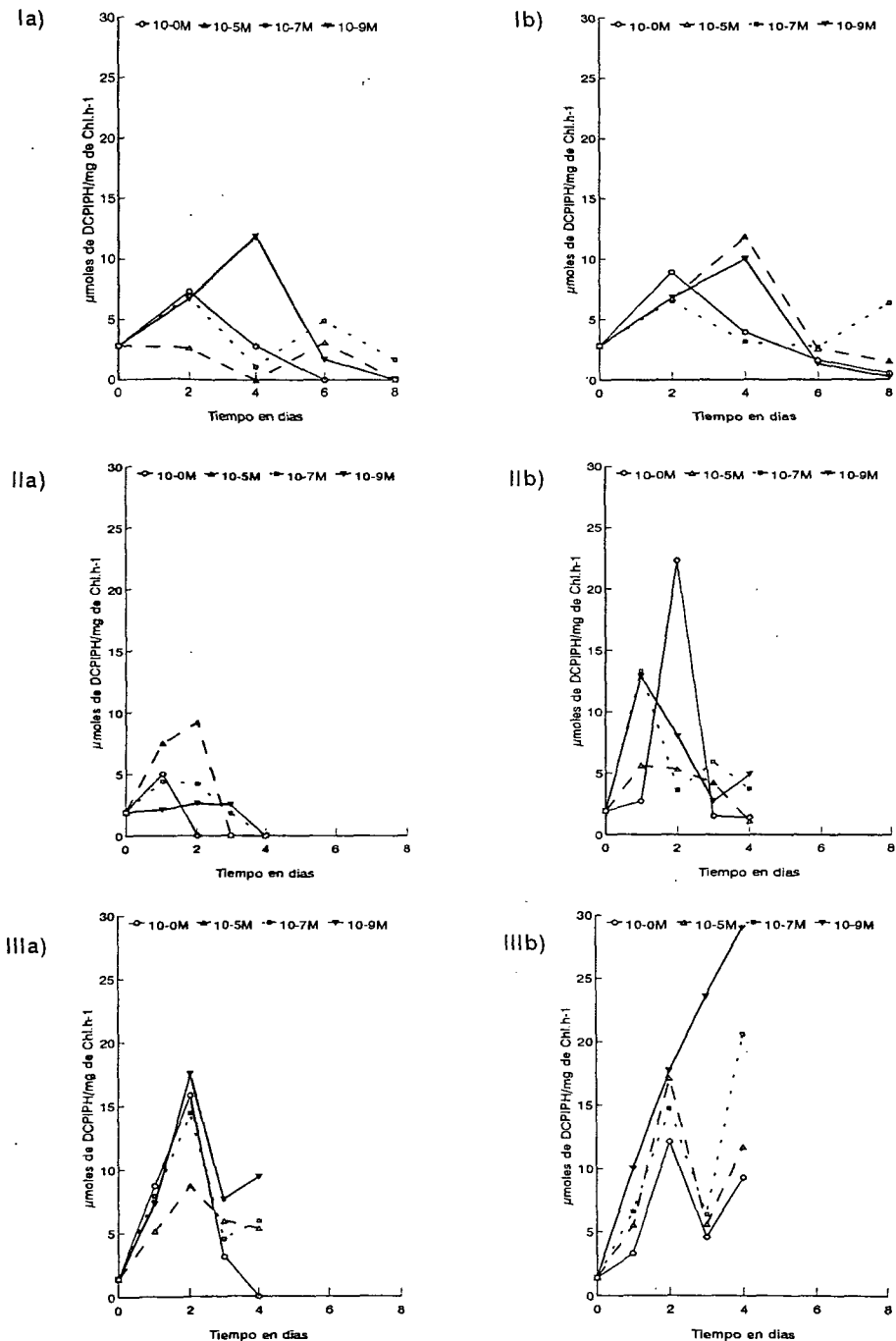


Figura 6. $\mu\text{moles de DCPIP} \cdot \text{mg de clorofila} \cdot \text{h}^{-1}$ en segmentos de *Stenocereus queretaroensis* con diferentes contenidos de almidón I)100%, II)50% y III)0% bajo las condiciones de a)luz y b)oscuridad con distintas concentraciones de BAP.

diferencias estadísticamente significativas (**Figura 7a**). En comparación con los tres experimentos anteriores, la respuesta apreciada en éste tratamiento es más notoria, ya que desde el análisis de signos visuales de la senescencia, confirmados posteriormente por el análisis bioquímico, se observó un efecto claro en la retardación de la misma, al conservar una cantidad mayor de clorofila por tratamiento y por condición ambiental que en los tratamientos anteriores (**Figura 7**).

VI.8. Análisis Estadístico.

Los cambios visuales fueron corroborados a través de la prueba estadística T de Student además se realizó el análisis de correlación lineal en todos los tratamientos (**BAP 100%, 50%, 0% de almidón y CH**). Estos análisis revelaron que existen diferencias estadísticamente significativas ($P < .5$) entre la condición de luz y la de oscuridad en relación al contenido de clorofila. Las diferencias entre los tratamientos con **BAP** y **CH** también son estadísticamente significativos ($P < .5$), mientras que el análisis de correlación entre la tasa degradativa de clorofila y el transcurso del tiempo, demostró que los resultados obtenidos, obedecen a un proceso real y no a un evento casual (**Cuadros 2 al 9**). Destacando este hecho en el análisis de los experimentos con **CH** ($P < .1$ y $.5$).

La tasa de degradación de clorofila fue mayor y más rápida en la condición de luz que en oscuridad, marcadamente en los primeros dos días del bioensayo con **BAP** y de un día para **CH**, aunque éste efecto persistió posteriormente en la luz, mientras que en la condición de oscuridad disminuía. Por tanto, la benciladenina y la cicloheximida retardan la pérdida de clorofila y por consecuencia la senescencia, según la prueba estadística T de Student y el análisis de correlación lineal.

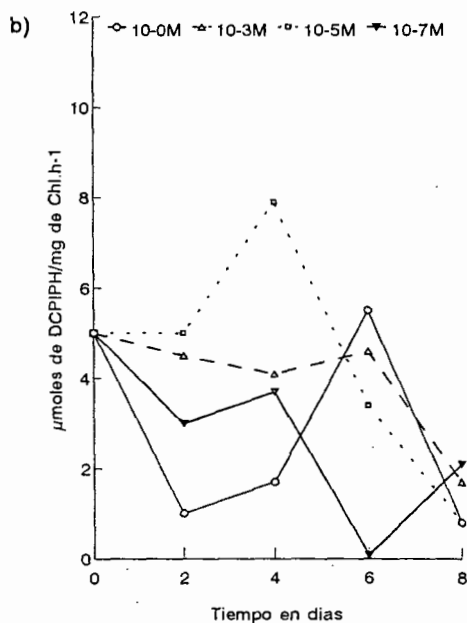
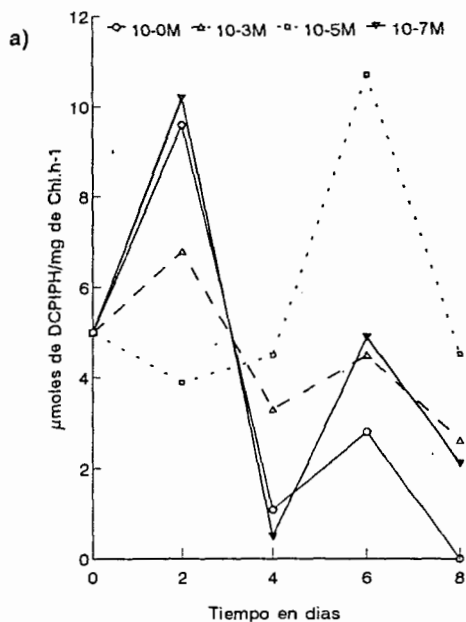


Figura 7. μ moles de DCPIP/mg de clorofila.h⁻¹ en segmentos de *Stenocereus queretaroensis* incubados en diferentes concentraciones de CH en las condiciones de a) luz y b) oscuridad.

VII. DISCUSION

Este trabajo nos permite confirmar que al igual que en otros estudios con diferentes especies vegetales, el síndrome de senescencia se retarda con la aplicación de **BAP** (Parthier, *op. cit.*; Thompson *et al.*, *op. cit.*; Leshem, *op. cit.*; Clarke *et al.*, 1994). Además, una parte importante de la expresión de este proceso se encuentra bajo el control del genoma nuclear (Smart, *op. cit.*), ya que la cicloheximida tuvo efectos notables en disminuir el avance de la senescencia.

Sin embargo, es importante señalar que los resultados de esta investigación revelan que la luz acelera el proceso de senescencia, lo cual contrasta con lo reportado por la mayoría de los trabajos realizados al respecto (Goldwaite y Laetsch, 1967; Haber *et al.*, 1969; Thimann, 1980; Neri *et al.*, 1993; Jordi *et al.*, 1994). Es de hacer notar el hecho de que tanto en el testigo como en los tratamientos con **BAP** y **CH** durante los primeros dos días de iniciado el experimento, se pierda entre el 60 y 65% de los valores iniciales de clorofila, lo cual, fue menos marcado en la condición de obscuridad, por lo que se presume que la expresión inicial de la senescencia se debe más a un proceso físico que bioquímico. En otras especies, la pérdida inicial es menor en el testigo, ya que ésta es del 29% en brocoli (Clarke *et al. op. cit.*); 5% en trigo (Shaw *et al.*, 1965) y 17% en cebada (Hukmani y Tripathy, 1994) por lo que este trabajo revela la posibilidad de que los autores no consideren la degradación basal física y por tanto no se puede asumir que en su totalidad este proceso se encuentre regulado por los genes (Figura 8). Además, en nuestro caso también es evidente la sensibilidad del tejido de pitayo a intensidades luminosas relativamente bajas, que en otras especies no usan fotooxidación.

Probablemente esta sea una respuesta biológica en la historia evolutiva de ésta especie, ya que normalmente las etapas iniciales de su desarrollo se llevan a cabo bajo la condición de sombra, inducida ésta, por la vegetación arbustiva y arborea a la que se encuentra asociada en los ecosistemas tropicales y subtropicales (Pimienta y Nietel, 1994).

La intensidad de la luz durante los experimentos manifestó variaciones del orden de los 3 a 5 $\mu\text{moles}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 9). Aunque la luz desempeñó un papel fundamental en el desarrollo del proceso de senescencia (a través de la fotooxidación) en el experimento con **BAP** y el del

tejido al 0% de almidón se registró el mayor número de $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (46), siendo éste el experimento en el que se encontró la respuesta más clara en la conservación de clorofila y viabilidad de cloroplastos.

Durante los experimentos el papel que desempeñó la temperatura sobre los tejidos no fue claro, ya que se observó un aumento gradual de la misma en los distintos experimentos 100%, 50%, 0% de almidón y CH (Figura 9). En en los que se aplicó BAP, la temperatura promedio osciló entre los 28 y 29 °C. Cuando la temperatura influyó en la senescencia de los segmentos, ésta se manifestó por la deshidratación de éstos y la evaporación de los contenidos acuosos en el interior de las cajas de petri. En el experimento con CH, se presentó la temperatura más elevada (32 °C); y se registraron las cantidades más elevadas de clorofila en los tejidos. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que la temperatura y la luz se asocien y que a través de la fotooxidación y la deshidratación promuevan el proceso de senescencia.

Algo importante que se debe entender es que la senescencia está programada genéticamente en cada especie, órgano o tejido de las plantas. Por ejemplo, el mecanismo de senescencia en las hojas se debe a la pérdida temprana de la clorofila, ARN y proteínas, incluyendo a muchas enzimas. Como éstos y otros componentes celulares se sintetizan y degradan de manera constante, la pérdida podría ser el resultado de una síntesis lenta, una rápida degradación o ambas (Smart, *op. cit.*).

La degradación de la clorofila b en la condición ambiental de luz fué mayor que la encontrada en la obscuridad. la explicación del porque se conserva más la clorofila a que la clorofila b, radica en que este tipo de clorofila es menos estable y más susceptible a la degradación. Además de que ésta tiene la capacidad de transferir la energía de excitación (colectada por las clorofilas antena y el resto de los pigmentos accesorios a los centros de reacción en los cuales esta clorofila se encuentra asociada a las proteínas). La clorofila a es vital en la cadena de transporte de los electrones, referidos éstos como flujo de electrones fotosintéticos hacia el fotosistema II, que permite llevar a éstos a un estado más electronegativo.

Con respecto al efecto de las citocininas sobre los vegetales, se ha sugerido que éstas pueden tener diferentes mecanismos de acción en múltiples tejidos, sin embargo, lo más sencillo sería que un efecto primario común, fuera seguido por numerosos efectos secundarios que dependieran del estado fisiológico de las células blanco (en éste experimento es posible que las

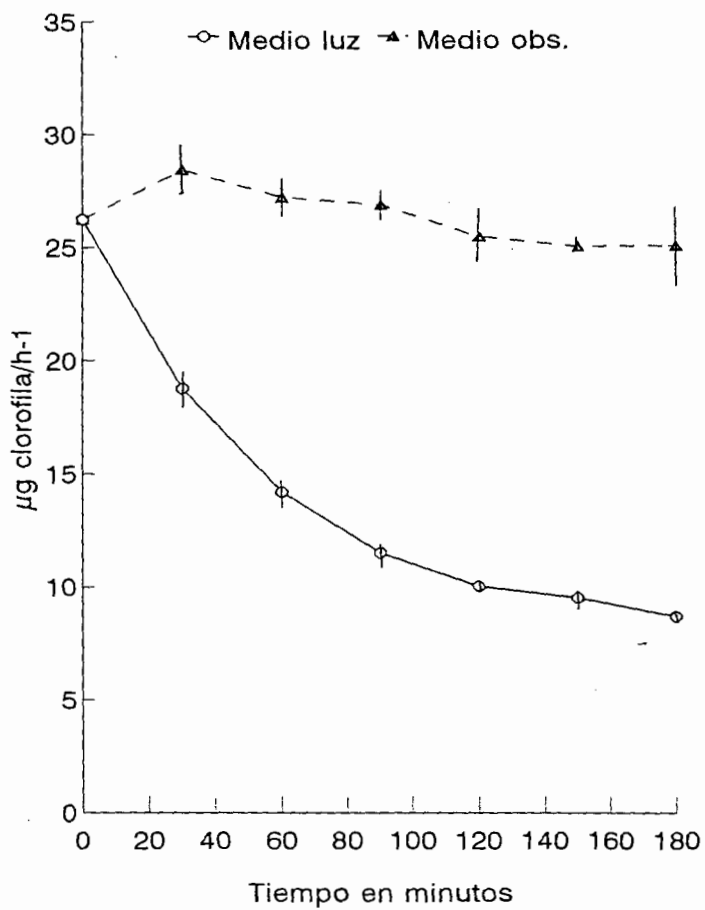


Figura 8. Degradación basal *in vitro* de la clorofila de *Stenocereus queretaroensis*.

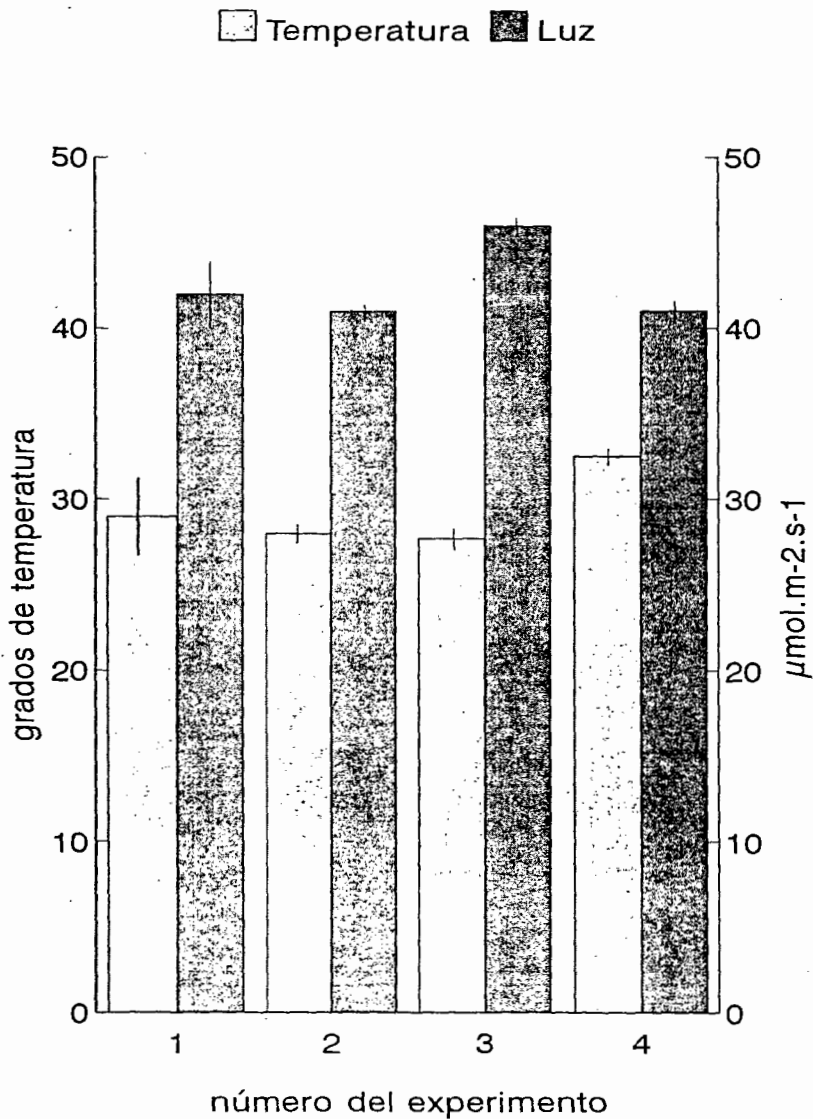


Figura 9. Temperatura y energía radiante ($\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) promedio durante los experimentos.

células del parénquima medular sean el blanco de la citocinina; como se ha encontrado en el crecimiento *in vitro*; Hernández, comunicación personal) además debe ocurrir una potenciación del efecto inicial (a partir de los 1-2 días) porque las citocininas están presentes en bajísimas concentraciones (0.01 M). Con base en lo anterior se ha formulado la hipótesis sobre un posible efecto promotor de las citocininas en la formación de ARN y enzimas, en parte por que los efectos de las citocininas normalmente son bloqueados por inhibidores de la síntesis de proteínas. No se han observado efectos específicos sobre la síntesis de ADN, aunque citocininas exógenas con frecuencia incrementan la división celular y podrían necesitarse normalmente para este proceso. sin embargo, aún no se comprende si el efecto antisenescente de las citocininas radica en alguno de éstos tres aspectos fisiológicos; si es que las citocininas actúan en la transcripción, estabilización de los ARNm o en la traducción, porque se tienen evidencias de todos los casos; quizá las citocininas afecten los tres procesos en las diferentes especies y partes de las plantas. Una vez que se comprenda en forma definitiva cómo es que las citocininas influyen en la síntesis de proteínas, quedará todavía por resolver cómo es que las enzimas recién traducidas, u otras proteínas, causan citocinesis, expansión celular y otros efectos (Salisbury y Ross *op. cit.*).

Por otra parte, aún no es posible explicar en términos enzimáticos las causas del metabolismo degradativo durante la senescencia, ya que no se sabe si lo que ocurre es un descenso en las actividades de síntesis de clorofila o si lo que ocurre es que se incrementa la destrucción de la misma. Sin embargo, es posible que la enzima clorofilásá actué en el nivel que se sintetiza la clorofila (Shimizu y Tamaki, *op. cit.*).

Una de las fases iniciales de la senescencia es la pérdida de la integridad de los cloroplastos, que es promovida por un cambio en la envoltura, que inicia con la separación de las membranas en sus componentes. Las proteínas de la membrana del cloroplasto son degradadas durante el amarillamiento y se piensa que durante la desintegración de éste, actúan dos sistemas proteolíticos: Uno en el estroma y el otro en el espacio y membrana tilacoide (Thomas, 1987). El flujo de electrones del fotosistema II hacia el fotosistema I declina de manera uniforme durante la senescencia, esto es considerado como una evidencia de que los diferentes componentes de la cadena del transporte de electrones en el cloroplasto, son inactivados de manera secuencial durante la senescencia (Biswall, 1976).

VIII. CONCLUSIONES

1. Los factores físicos y en especial la luz, participaron de manera muy activa en la promoción del síndrome de senescencia tanto con **BAP** como con **CH**, lo que nos sugiere que el control de este proceso, se encuentra mayormente influenciado por factores ambientales que por la regulación fisiológica.
2. La aplicación tanto de **BAP** como de **CH**, retardó el proceso de senescencia en segmentos de ramas de pitayo, sin embargo, este efecto fue más pronunciado con la aplicación del inhibidor de la expresión nuclear que con la fitohormona.
3. Con respecto a las variables clorofila y viabilidad de cloroplastos, el análisis de clorofila resultó ser el parámetro más sensible y confiable, para determinar la sensibilidad de los tejidos a factores físicos y bioquímicos vinculados con el proceso de senescencia en ambas condiciones ambientales.
4. El análisis de los tejidos sobre el porcentaje de almidón (como reserva de energía), mostró que éste interfiere de alguna forma con la acción de la citocinina. Es probable que esta interferencia se lleve a cabo en el nivel molecular, a través de la asociación de la fitohormona con algún producto intermediario en la descomposición del polisacárido, es decir mediante la formación de ligandos.

5. Desde una perspectiva global, las evidencias encontradas durante esta investigación, sugieren que el proceso de senescencia en segmentos de ramas de *S. queretaroensis* se activa como una consecuencia directa de la inducción de las heridas, involucrando con ello la formación de productos del metabolismo secundario e.g. radicales libres (fenoles) y peróxidos. Esto se basa en los cambios de coloración (rojiza a parda) encontrada en la superficie inmediata a la herida en el tejido.

6. El tipo de respuesta en los tejidos bajo la influencia de los porcentajes de almidón, sugiere que este proceso requiere de energía para poder llevarse a cabo, ya que cuando el porcentaje de éste fue mayor, los tejidos senescieron más rápido y los factores bioquímicos no alteraron el curso de la senescencia.

IX. LITERATURA CONSULTADA

- Arnon, D.E. 1949. Cooper enzymes in isolated chloroplast. polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- Arnon, I.D. 1991. Photosynthetic electronic transport an emergence concept. *Photosynthesis Research* 29: 117-131.
- Beevers L. 1976. Senescence. In: Bonner, J. and J. E. Varner (Eds). *Plant Biochemistry*. Academic press. London. 771-796.
- Bidwell, R.G.S. 1979. *Fisiología Vegetal*. Segunda edición A.G.T. Editor. México. 784p.
- Biswall, U.C. 1976. Ageing induced changes in the photosynthetic electron transport of detached barley leaves. *Plant. Cell. Physiol.* 17: 323-31.
- Boke, N.H. 1980 . Developmental morphology and anatomy in cactaceae. *Bioscience* 30 (9):605-610
- Bradford, J.K . and A. J. Trewavas. 1994. Sensitivity thresholds and variable time scales in plant hormone action. *Plant Physiol.* 105: 1029-1036.
- Bravo, H.H. 1978. *Las Cactáceas de México*, 2a Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 735p.
- Bruinsma, J. 1961. A comment on the spectrophotometric determination of chlorophyll. *Biochem. Biophys. Acta* 52:579-582.
- Burton, W.G. 1982. *Post-Harvest Physiology of Food Crops*. Longman, London and New York. 339p.
- Buxbaum, F. 1950. *Morphology de Cacti*, section I. Roots and Stems. Pasadena: Abbey Garden Press, California pp: 1-87.
- Caers, M., P. Rudelsheim, H.V. Onclenen and S. Horemans. 1985. Effect of heat stress on photosynthetic activity and chloroplast ultrastructure in correlation with endogenous cytokinin concentration in maize seedlings. *Plant. cell. Physiol.* 26: 47-52.
- Camacho, C.O., D.H. del Valle P. y G.A. Ruelas A. (eds.). 1982. *SAS (Statistical Analysis System) para microcomputadoras*. Primera edición. México D.F. 174p.
- Castelfranco, P. 1977. *Laboratory Notes, advanced course of plant physiology*. Botany 206-B. Botany Department. University of California Davis.

- Colbert, K.A. and J.E. Beever. 1981. Effect of disbudding on root cytokinin export and leaf senescence in tomato and tobacco. *Journ. of Exper. Botan.* 32: 299-305.
- Clarke, S.F., P.E. Jameson and C. Downs. 1994. The influence of 6-benzylaminopurine on post-harvest senescence of floral tissues of brocoli (*Brassica oleracea* var *itálica*). *Plant Growth Regulation.* 14 21-27.
- De Kok, L.J. and M. Graham. 1989. Levels of pigments, soluble proteins, aminoacids and sulfhydryl compounds in foliar tissue of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced and natural senescence. *Plant Physiol. Biochem.* 27 (2): 203-209.
- Domínguez, D. la T. A. 1995. Efecto del suministro de agua en el crecimiento y esfuerzo reproductivo de *S. queretaroensis* (Web.) Buxbaum. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Guadalajara. 75p.
- Dyer, T.A. and D.J. Osborne. 1971. Leaf nucleic acid. II. Metabolism senescence and the effect of kinetin. *Jour. of Exper. Bot.* 22: 552-560.
- Esau, K. 1965. *Plant Anatomy*. 2nd edition. John Wiley, New York.
- Fernandez, G. y Johnston. 1986. *Fisiología Vegetal Experimental*. Primera Edición. Servicio Editorial IICA. San José, Costa Rica. Cap 2 : 19-23.
- Fletcher, R.A. and D.J. Osborne. 1966. Gibberellin, as a regulator of protein and ribonucleic acid synthesis during senescence in leaf cells of *Taraxacum officinale*. *Can. Jour. of Bot.* 44: 739-745.
- García, S.M.L. 1991. Evaluación del proceso de senescencia en pencas jóvenes de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). Tesis Profesional. Facultad de Agronomía. Universidad de Guadalajara. 75p.
- Gerwick, C.B. 1977. Effects of the Temperature in the Hill reaction and photophosphorilation in isolated chloroplast of the cactus. *Plant Physiol.* 60: 430-432.
- Guiamét, J.J., J.A. Teeri and L.D. Noodén. 1990. Effects of nuclear and cytoplasmic genes altering chlorophyll loss on gas exchange during monocarpic senescence in soybean. *Plant. cell. physiol.* 31 (8): 1123-1130.
- Gibson, A.C. and P.S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge (MA).

- Goldstein, G. and P.S. Nobel. 1991. Changes in the osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiol.* 97: 954-961.
- Goldthwaite, J.J. and W.M. Laetsch. 1967. Regulation of senescence in bean leaf disc by light and chemical growth regulators. *Plant Physiol.* 42: 1757-1762.
- Haber, A.H., P. Thompson and J. Welme. 1969. Nonphotosynthetic retardation of chloroplast senescence by light. *Plant. Physiol.* 44 (28): 1919
- Hendry, G. 1988. Where does all the green go?. *New Scientist.* 1637: 38-42.
- Hensel, L.L., V. Gerbié., D.A. Baumgarten and A.B. Bleecker. 1993. Developmental and age-related processes that influence the longevity and senescence of photosynthetic tissues in *Arabidopsis*. *The Plant Cell.* 5: 553-564.
- Hind, G. 1988. Conversión de la energía por la fotosíntesis, en: Coombs, J., D.O. Hali, S.P. long y J.M.O. Scurlock (eds.). *Técnicas en Fotosíntesis y Bioproduktividad.* Editorial Futura. Colegio de Postgraduados. Chapingo. Edo. de México. México pp: 111-115.
- Hukmani, P. and B.C. Tripathy. 1994. Chlorophyll biosynthetic reactions during senescence of excised Barley (*Hordeum vulgare* L. cv IB65). *Plant. Physiol.* 105: 1295-1300.
- Hurtado, D.V.M. y M.E.M. Merino. 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Primera edición. Editorial Trillas. México. 232p.
- Huzisige, H. and Y. Yamamoto. 1973. Analysis of photosystem II using particle II preparation. II. Action spectra for Hill activities and fluorescence properties of Variously-treated particle II preparations. *Plant. Cell. Physiol.* 14: 953-963.
- Jiménez, L.G.M., E. Pimienta B. y A. Muñoz U. 1995. Estudio anatómico del tallo de pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum. *Revista Cactáceas y Suculentas Mexicanas.* 40 (3):51-57
- Jordi, W., C.S. Pot, G.M. Stoopen and A.H.C.M. Shapendonk. 1994. Effect of light an gibberelic acid on photosynthesis during leaf senescence of *alstroemeria* cut flowers. *Physiol. Plant.* 90: 293-298.
- Kalt, W., C.B. Osmond and J.N. Siedow. 1990. Malate metabolism in the dark after CO₂ fixation in the crassulacean plant *Kalanchoe tubiflora*. *Plant Physiol.* 94: 826-832.

- Kluge, M. and I.P. Ting. 1978. Crassulacean acid metabolism, analysis of an ecological adaptación. Berlin: Springer Verlag.
- Koike, T. 1990. Autumn coloring, photosynthetic performance and leaf development of deciduous broad-leaved trees in relation to forest succession. *Tree Physiol.* 7: 21-32.
- Leopold, A.C. 1961. Senescence in plant development. The death of plants parts may be of positive ecological or physiological value. *Science* 134: 1727-1732.
- Leopold, A.C. and M. Kawase. 1961. Benzyladenine effects on bean leaf growth and senescence. *Amer. Jour. of Bot.* 51 (3): 291-298.
- Leshem, Y.Y. 1988. Plant senescence processes and free radicals. *Free Radical Biology and Medicine* 5: 39-49.
- Loik, M.E. and P.S. Nobel. 1991. Water relations and mucopolysaccharide increases for a winter hardy during acclimation to sub zero temperatures. *Oecology.* 88: 340-346.
- Lomelí, M.E. y E. Pimienta B. 1993. Demografía reproductiva del pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum). *Revista Cactaceas y Suculentas Mexicanas* 38: 13-19.
- Luttge, U. and E. Ball. 1979. Electrochemical investigation of active malic acid transport at the tonoplast in to the vacuoles of the CAM plant *Kalanchoe daigremontiana*. *J. Membrane Biol.* 47: 401-422.
- Margulies, M.M. 1966. Concerning the preparation of chloroplast active in Hill and photosynthetic phosphorylation activities from leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant. Physiol.* 41: 1320-1322.
- Martin, C. and K.V. Thimann. 1972. The role of protein synthesis in the senescence of leaves. I. The formation of protease. *Plant Physiol.* 49: 64-71; II. The influence of amino acid on senescence. *Plant Physiol.* 52: 294-303.
- Martínez, G.A. 1988. Diseños experimentales, métodos y elementos de teoría. Primera edición. Editorial trillas. México. 756p.
- Matile, P., M. Schellenberg and C. Peisker. 1992. Production and release of a chlorophyll catabolite in isolated senescent chloroplast. *Planta* 187: 230-235.
- Matthews, R.E.F. 1991. Disease symptoms and effects on metabolism. In: *Plant Virology*. 3rd ed. London: Academic Press. 380-422.

- Mauseth, J.D. 1991. Continental drift, climate and the evolution of cacti. *Cact. and Succ. Journ. (U.S.)* 62: 302-308.
- Mothes, K. and L. Engelbrecht. 1961. Kinetin-induced directed transport of substances in excised leaves in the dark. *Phytochem. (Oxford)* 1: 58-62.
- Muñoz, U.A. 1995. Estudio anatómico, morfológico y citológico de seis variedades de nopal tunero del altiplano Potosino-Zacatecano. Tesis de maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Edo. de México. 65 p.
- Neri, L.C., E.Pimienta B. y C.Robles M. 1993. Cambios fisiológicos durante el proceso de senescencia en cladodios jóvenes de nopal. (*Opuntia ficus-indica*. (L.) Miller). *Agrociencia serie Fitociencia* 4 (1): 7-18.
- Nobel, P.S. and P.W. Jordan. 1983. Transpiration stream of desert species; resistances and capacitances for a C₃, a C₄ and CAM. *Plant. Journ. of Exp. Bot.* 34: 1379-1391.
- Nobel, P.S. 1990. Low-temperature tolerance and CO₂ uptake for *Platyopuntias*- a laboratory assessment. *Jour. of Arid Environ.* 18: 313-324.
- Nobel, P.S. 1994. Remarkable Agaves and Cacti. Oxford University Press. New york. 166p
- Nobel, S.P. and E. Pimienta-Barrios. 1995. Anomalous monthly stem elongation for *Stenocereus queretaroensis*, relationships to environmental conditions, net CO₂ uptake and seasonal variations contents in sugar. *Environ. and Exper. Bot.* 35 (1): 17-24.
- Park, J. and K.V. Thimann. 1990. Senescence and stomatal aperture as affected by antibiotics in darkness and light. *Plant Physiol.* 92: 696-702.
- Parthier. 1979. The role of phytohormones (citokinins) in chloroplast development (a review). *Biochemie und Physilo der Pflanzen.* 185: 289-314.
- Peoples, M.B., V.C. Beilharz, S.P. Waters, R.J. Simpson and M.J. Dalling. 1980. Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Chloroplast senescence and degradation of ribulose-1-5 biphosphate carboxilase. *Planta.* 149: 241-251.
- Pérez, R.C. y E. Pimienta B. 1995. Viabilidad de semillas y poliembrionía en morfoespecies cultivadas y silvestres de *Opuntia*. *Agrociencia*, en prensa.

- Pimienta, B.E. and P.S. Nobel. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp.; Cactaceae): An ancient and modern fruit crop in Mexico. *Econ. Bot.* 48 (1): 76-83.
- Pimienta, B.E. and P.S. Nobel. 1995. Reproductive characteristics of pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum) and their relationships with soluble sugars and irrigation. En prensa.
- Pimienta, B.E., C. Robles M. y A. Dominguez De la T. 1995. Estrategias fisiológicas y reproductivas de adaptación de *Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum a la aridez. *Ciencia.* 46 (3):
- Richmond, A.E. and A. Lang. 1957. Effect of kinetin on protein content and survival of detached *Xanthium* leaves. *Science.* 125: 650-651.
- Robles, M.C. 1994. Estudio anatómico-fisiológico comparativo entre el nopal (*Opuntia ficus-indica* (L) Miller y el pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Web.) Buxbaum. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco.
- Rzedowski, J. 1983. Vegetación de las zonas áridas y semiáridas de México. En: Molina, G. (Editor) Recursos naturales de zonas áridas de México. Colegio de Posgraduados. Chapingo Edo. de Mex. 48-55.
- Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 1994. Fisiología vegetal. Cuarta edición Wadsworth Publishing Co. Inc. Belmont, California. Versión en Español por el Grupo Editorial Iberoamérica. 759p.
- Sexton, R. and H.W. Woolhouse. 1984. Senescence and abscission. In: Wilkins, MB. (ed). *Advanced Plant Physiology*. London: Pitman. 469-497.
- Shaw, M., P.K. Bhattachayra and W.A. Quick. 1965. Chlorophyll, protein, and nucleic acid levels in detached, senescing wheat leaves. *Can. Jour. of Bot.* 43: 739-746.
- Shimizu, S. and E. Tamaki. 1963. Chlorophyllase of tobacco plants. II. Enzymic Phytolation of Chlorophyllide and Pheophorbide in vitro. *Arch. Biochem. Biophys.* 102: 152-58.
- Sitte, P. 1977. Chromoplasten-bunte objekte der modernen Zellbiologie. *Biologie in unserer Zeit.* 7: 65-74.

- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118-130.
- Smart, C.M. 1994. Gene expression during senescence of leaf. New Phytol. 126: 419-448.
- Somerville, R.C. y S.C. Somerville. 1984. La fotosíntesis de las plantas. Mundo Científico. 37 (4): 612-623.
- Spalding, M.H. and G.E. Edwards. 1980. Photosynthesis in isolated chloroplasts of the Crassulacean acid metabolism in *Sedum prealtum*. Plant. Physiol. 65: 1044-1048.
- Sutton, B.G., I.P. Ting and R. Sutton. 1981. Carbohydrate metabolism of cactus *Opuntia vigelovii* in a desert environment. Plant Physiol. 68: 784-787.
- Stoddart, J.L. 1982. Introduction. In: Jackson MB, B. Grout, and I.A. Mackenzie. (eds). Growth Regulators in Plant Senescence. Monograph and Wantage: Brit. Plant Grow. Regul. Group.: 1-3
- Tetly, R.M. and K.V. Thimann. 1974. The metabolism of oat leaves during senescence. I. Respiration, carbohydrate metabolism and the action the cytokinins. Plant Physiol. 54: 294-303.
- Thimann, K.V., R.M. Tetly and B.M. Krivak. 1977. Metabolism of oat leaves during senescence. V. Senescence in light. Plant Physiol. 59: 448-454.
- Thimann, K.V. 1980. Senescence in Plants. C.R.C. Press. Inc. Boca Raton, Florida. Chapter 5 85-113 p.
- Thomas, H. and J.L. Stoddart. 1980. Leaf senescence. Ann. Rev. of Plant Physiol. 31: 83-111.
- Thomas, H. 1987. Sid: A Mendelian locus controlling thylakoid membrane disassembly in senescing leaves of *Festuca pratensis*. Theor. Appl. Genet. 73: 551-555.
- Thompson, J.E., R.L Legge and T.F. Barber, 1987. The role of free radicals in senescence and wuoriding. New Phytol. 105: 317-344.
- Tian, M.S., C.G. Downs, R.E. Lill and G.A. King. 1994. A role for ethylene in the yellowing of Broccoli after Harvest. Journ. Amer. Soc. Hort. Sci. 119 (2): 276-281.
- Ting, P.I. 1985. Crassulacean acid metabolism. Ann. Rev. Plant. Physiol. 36: 595-622.

- Torrey, J.G., D.E. Foosket and P.K. Hepler. 1971. Xilem formation: a paradigm in higher plants. *Amer. Sci.* 59: 338-352.
- UCAR. 1991. Arid ecosystem interaction worleshosp on recomendations of drylanel research in the global changes research program. Boulder, Colorado. '
- Vonshak, A. and A.E. Richmond. 1975. Initial stages in the onset of senescence in tobacco leaves. *Plant. Physiol.* 55: 786-790.
- Yamashita, T., J. Tsuji and G. Tomita. 1971. Ractivation of Hill reaction of tris-washed chloroplast. *Plant Cell Physiol.* 12: 117-126.

X. APENDICE.

Cuadro 2. Tasas de degradación de clorofila en $\mu\text{g.h}^{-1}$ a distintos periodos de tiempo, en segmentos de *Stenocereus queretaroensis*, con un 100% de almidón, incubados en diferentes concentraciones de BAP bajo las condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION BAP | CONDICION AMBIENTAL | TIEMPO (DIAS) | | | | | |
|----------------------|------------------------|---------------|-------|-------|-------|-------------------------|----------|
| | | 2 | 4 | 6 | 8 | r | b |
| 10 ⁻⁹ M | L | 0.295 | 0.145 | 0.093 | 0.072 | (-0.926 [*]) | (-0.035) |
| | O | 0.261 | 0.123 | 0.109 | 0.028 | (-0.930 [*]) | (-0.033) |
| 10 ⁻⁵ M | L | 0.265 | 0.135 | 0.094 | 0.074 | (-0.923 [*]) | (-0.030) |
| | O | 0.271 | 0.131 | 0.102 | 0.053 | (-0.943 [*]) | (-0.034) |
| 10 ⁻⁷ M | L | 0.217 | 0.123 | 0.101 | 0.081 | (-0.921 [*]) | (-0.021) |
| | O | 0.175 | 0.112 | 0.105 | 0.053 | (-0.962 ^{**}) | (-0.022) |
| 10 ⁻⁹ M | L | 0.268 | 0.140 | 0.099 | 0.086 | (-0.912 [*]) | (-0.029) |
| | O | 0.247 | 0.128 | 0.095 | 0.037 | (-0.966 ^{**}) | (-0.033) |

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

**=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 3. Tasas de degradación de clorofila en $\mu\text{g.h}^{-1}$ a distintos períodos de tiempo, en segmentos de *S. queretaroensis* con un 50% de almidón, incubados en diferentes concentraciones de BAP, bajo las condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION BAP | CONDICION AMBIENTAL | TIEMPO (DIAS) | | | | | r | b |
|----------------------|------------------------|---------------|-------|-------|-------|-------------------------|----------|---|
| | | 2 | 4 | 6 | 8 | | | |
| 10^{-6}M | L | 0.342 | 0.190 | 0.135 | 0.107 | (-0.935*) | (-0.075) | |
| | O | 0.389 | 0.163 | 0.125 | 0.105 | (-0.876 ^{ns}) | (-0.088) | |
| 10^{-5}M | L | 0.265 | 0.170 | 0.132 | 0.154 | (-0.819 ^{ns}) | (-0.037) | |
| | O | 0.359 | 0.167 | 0.103 | 0.095 | (-0.899 ^{ns}) | (-0.085) | |
| 10^{-7}M | L | 0.320 | 0.181 | 0.109 | 0.110 | (-0.913*) | (-0.070) | |
| | O | 0.410 | 0.139 | 0.116 | 0.088 | (-0.854 ^{ns}) | (-0.098) | |
| 10^{-9}M | L | 0.309 | 0.177 | 0.129 | 0.122 | (-0.907 ^{ns}) | (-0.061) | |
| | O | 0.395 | 0.179 | 0.100 | 0.075 | (-0.922*) | (-0.103) | |

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

^{ns}=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 4. Tasas de degradación de clorofila en $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ a distintos períodos de tiempo, en segmentos de *S. queretaroensis* con un 0% de almidón, incubados en diferentes concentraciones de BAP bajo las condiciones ambientales de luz (L) y oscuridad (O).

| CONCENTRACION BAP | CONDICION AMBIENTAL | TIEMPO (DIAS) | | | | | |
|----------------------|------------------------|---------------|-------|-------|-------|-------------------------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | r | b |
| 10^{-9}M | L | 0.159 | 0.074 | 0.045 | 0.039 | (-0.907 [*]) | (-0.038) |
| | O | 0.070 | 0.072 | 0.021 | 0.032 | (-0.816 ^{ns}) | (-0.016) |
| 10^{-5}M | L | 0.158 | 0.060 | 0.041 | 0.032 | (-0.883 ^{ns}) | (-0.039) |
| | O | 0.045 | 0.080 | 0.009 | 0.023 | (-0.571 ^{ns}) | (-0.013) |
| 10^{-7}M | L | 0.105 | 0.068 | 0.035 | 0.039 | (-0.921 [*]) | (-0.023) |
| | O | 0.067 | 0.063 | 0.022 | 0.037 | (-0.788 ^{ns}) | (-0.013) |
| 10^{-9}M | L | 0.144 | 0.052 | 0.030 | 0.023 | (-0.889 ^{ns}) | (-0.036) |
| | O | 0.050 | 0.051 | 0.022 | 0.031 | (-0.774 ^{ns}) | (-0.008) |

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

^{ns}=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 5. Tasas de degradación de clorofila en $\mu\text{g.h}^{-1}$ a distintos periodos de tiempo, en segmentos de *S. queretaroensis* incubados en diferentes concentraciones de CH bajo las condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION CH | | TIEMPO (DIAS) | | | | | |
|---------------------|---|---------------|-------|-------|-------|-------------------------|----------|
| CONDICION AMBIENTAL | | 1 | 2 | 3 | 4 | r | b |
| 10^{-9}M | L | 1.006 | 0.581 | 0.392 | 0.289 | (-0.918*) | (-0.11) |
| | O | 0.932 | 0.456 | 0.300 | 0.241 | (-0.953**) | (-0.12) |
| 10^{-3}M | L | 0.942 | 0.494 | 0.310 | 0.230 | (-0.912*) | (-0.129) |
| | O | 0.973 | 0.486 | 0.184 | 0.211 | (-0.940*) | (-0.116) |
| 10^{-5}M | L | 0.888 | 0.540 | 0.379 | 0.276 | (-0.884 ^{ns}) | (-0.139) |
| | O | 1.071 | 0.369 | 0.271 | 0.172 | (-0.962*) | (-0.099) |
| 10^{-7}M | L | 1.104 | 0.536 | 0.389 | 0.300 | (-0.904*) | (-0.118) |
| | O | 0.999 | 0.435 | 0.326 | 0.235 | (-0.914*) | (-0.127) |

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

^{ns}=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 6. Tasas de reducción del DCPIP ($\mu\text{moles/mg}$ clorofila. h^{-1}) de cloroplastos aislados a partir de segmentos de *S. queretaroensis* con un 100% de almidón, incubados en diferentes concentraciones de BAP a distintos intervalos de tiempo, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION BAP | CONDICION AMBIENTAL | TIEMPO (DIAS) | | | | r | b |
|----------------------|------------------------|---------------|-------|-------|-------|-------------------------|----------|
| | | 2 | 4 | 6 | 8 | | |
| 10^{-9}M | L | 7.3* | 2.8* | ---- | ---- | (-0.925 [*]) | (-1.235) |
| | O | 8.9* | 3.9* | 6.5* | 0.5* | (-0.951 ^{**}) | (-1.375) |
| 10^{-5}M | L | 2.6* | ---- | 3.1* | ---- | (-0.365 ^{**}) | (-0.235) |
| | O | 6.7* | 11.8* | 25.6* | 1.5* | (-0.684 ^{**}) | (-1.245) |
| 10^{-7}M | L | 6.9* | 1.1* | 4.9* | 16.1* | (-0.566 ^{**}) | (-0.605) |
| | O | 6.5* | 3.1* | 27.2* | 6.3* | (-0.063 ^{**}) | (-0.050) |
| 10^{-9}M | L | 6.7* | 11.9* | 1.7* | ---- | (-0.729 ^{**}) | (-1.515) |
| | O | 6.8* | 10.0* | 13.9* | 0.2 | (-0.795 ^{**}) | (-1.425) |

* (* 10^{-6})

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

**=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 7. Tasas de reducción del DCPIP ($\mu\text{moles/mg}$ clorofila. h^{-1}) de cloroplastos aislados a partir de segmentos de *S. queretaroensis* con un 50% de almidón incubados en diferentes concentraciones de BAP a distintos intervalos de tiempo, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION BAP | | TIEMPO (DIAS) | | | | | |
|---------------------|---|---------------|-------|------|-------|-------------------------|----------------|
| CONDICION AMBIENTAL | | 2 | 4 | 6 | 8 | r | b |
| 10^{-6}M | L | 0.5* | ---- | ---- | ---- | (-0.636 ^{ns}) | (- 0.880) |
| | O | 27.4* | 42.3* | 1.5* | 1.4* | (-0.758 ^{ns}) | (-11.860) |
| 10^{-5}M | L | 7.5* | 9.2* | ---- | ---- | (-0.411 ^{ns}) | (-1.130) |
| | O | 5.6* | 5.3* | 4.2* | 11.3* | (-0.916 [*]) | (-1.460) |
| 10^{-7}M | L | 4.4* | 4.2* | 1.8* | ---- | (-0.960 ^{**}) | (-1.566) |
| | O | 13.3* | 3.6* | 5.9* | 3.7* | (-0.747 ^{ns}) | (-2.650) |
| 10^{-9}M | L | 2.1* | 2.6* | 2.5* | ---- | (-0.667 ^{ns}) | (-0.640) |
| | O | 12.9* | 8.0* | 2.7* | 4.9* | (-0.855 ^{ns}) | (-2.930) |
| | | | | | | | (* 10^{-6}) |

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

^{ns}=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 8. Tasas de reducción de DCPIP ($\mu\text{moles/mg}$ clorofila h^{-1}) de cloroplastos aislados a partir de segmentos de *S. queretaroensis* con un 0% de almidón, incubados en diferentes concentraciones de BAP a distintos intervalos de tiempo, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION BAP | | TIEMPO (DIAS) | | | | | |
|---------------------|---|---------------|-------|-------|-------|-------------------------|----------------------------|
| CONDICION AMBIENTAL | | 1 | 2 | 3 | 4 | r | b |
| 10^{-6}M | L | 8.7* | 15.8* | 3.1* | --- | (-0.721 ^{ns}) | (-3.880) |
| | O | 3.3* | 12.1* | 4.6* | 9.3* | (-0.333 ^{ns}) | (-1.060) |
| 10^{-5}M | L | 5.1* | 8.7* | 5.9* | 5.3* | (-0.170 ^{ns}) | (-0.220) |
| | O | 5.5* | 17.1* | 5.6* | 11.7* | (-0.164 ^{ns}) | (0.716) |
| 10^{-7}M | L | 7.9* | 14.4* | 4.5* | 5.9* | (-0.468 ^{ns}) | (-1.590) |
| | O | 6.6* | 14.7* | 6.4* | 20.6* | (-0.632 ^{ns}) | (3.370) |
| 10^{-9}M | L | 7.3* | 17.5* | 7.6* | 9.4* | (-0.970 ^{ns}) | (-0.036) |
| | O | 10.0* | 17.7* | 23.6* | 29.0* | (-0.999 ^{**}) | (6.17) *(10^{-6}) |

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

^{ns}=No significativo

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 9. Tasas de reducción del DCPIP ($\mu\text{moles/mg}$ clorofila h^{-1}) de cloroplastos aislados a partir de segmentos de *S. queretaroensis* incubados en diferentes concentraciones de CH a distintos intervalos de tiempo, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| CONCENTRACION | | TIEMPO (DIAS) | | | | | |
|-------------------|---------------------|---------------|------|-------|------|-------------------------|----------|
| CH | CONDICION AMBIENTAL | 2 | 4 | 6 | 8 | r | b |
| 10^{-9}M | L | 9.6* | 1.1* | 2.8* | --- | (-0.812 ^{ns}) | (-1.355) |
| | O | 1.0* | 1.7* | 5.5* | 0.8* | (0.187 ^{ns}) | (0.160) |
| 10^{-3}M | L | 6.8* | 3.3* | 4.5* | 2.6* | (-0.798 ^{ns}) | (-0.570) |
| | O | 4.5* | 4.1* | 4.6* | 1.7* | (-0.745 ^{ns}) | (-0.395) |
| 10^{-5}M | L | 3.9* | 4.5* | 10.7* | 4.5* | (0.321 ^{ns}) | (0.400) |
| | O | 5.0* | 7.9* | 3.4* | 0.8* | (-0.742 ^{ns}) | (-0.855) |
| 10^{-7}M | L | 10.2* | 0.5* | 4.9* | 0.3* | (-0.700 ^{ns}) | (=1.265) |
| | O | 3.0* | 3.7* | 0.08* | 2.1* | (-0.519 ^{ns}) | (-0.316) |

*(10^{-6})

*Valor de probabilidad significativo al 0.1

**Valor de probabilidad significativo al 0.05

^{ns}=No significativo.

r= Coeficiente de correlación.

b= Pendiente.

Cuadro 10. Contenido de clorofila a y b en $\mu\text{g/mL}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* con el 100% de almidón, bajo la influencia de la BAP a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (0).

| DIA | Clorofila | 10^{-9}M | | 10^{-5}M | | 10^{-7}M | | 10^{-9}M | |
|-----|-----------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| | | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. |
| 0 | A | 6.94 | 6.94 | 6.94 | 6.94 | 6.94 | 6.94 | 6.94 | 6.94 |
| | B | 2.15 | 2.15 | 2.15 | 2.15 | 2.15 | 2.15 | 2.15 | 2.15 |
| 2 | A | 1.07 | 1.74 | 1.44 | 1.50 | 2.22 | 2.98 | 1.49 | 1.86 |
| | B | 0.61 | 0.56 | 0.76 | 0.60 | 1.00 | 1.22 | 0.65 | 0.76 |
| 4 | A | 0.99 | 2.15 | 1.32 | 1.58 | 1.58 | 2.70 | 1.22 | 1.79 |
| | B | 0.88 | 0.76 | 0.84 | 0.84 | 1.08 | 0.60 | 0.71 | 0.72 |
| 6 | A | 0.79 | 0.84 | 1.06 | 1.06 | 0.81 | 1.06 | 0.74 | 1.59 |
| | B | 0.93 | ---- | 0.68 | 0.20 | 0.51 | 0.04 | 0.68 | 0.20 |
| 8 | A | 6.94 | 2.91 | 0.67 | 2.33 | 0.43 | 3.34 | 0.26 | 3.15 |
| | B | 2.15 | 2.27 | 0.85 | 1.00 | 0.38 | 2.03 | 0.16 | 1.58 |

Cuadro 11. Contenido de clorofila a y b en $\mu\text{g}/\text{mL}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* con el 50% de almidón, bajo la influencia de la BAP a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| DIA | Clorofila | 10^{-0}M | | 10^{-5}M | | 10^{-7}M | | 10^{-9}M | |
|-----|-----------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| | | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. |
| 0 | A | 9.74 | 9.74 | 9.74 | 9.74 | 9.74 | 9.74 | 9.74 | 9.74 |
| | B | 3.67 | 3.67 | 3.67 | 3.67 | 3.67 | 3.67 | 3.67 | 3.67 |
| 1 | A | 3.30 | 2.70 | 4.90 | 3.24 | 3.95 | 2.36 | 4.16 | 2.56 |
| | B | 1.87 | 1.35 | 2.11 | 1.52 | 1.74 | 1.17 | 1.84 | 1.33 |
| 2 | A | 2.75 | 3.53 | 3.35 | 3.36 | 3.07 | 4.35 | 3.11 | 3.41 |
| | B | 1.51 | 2.03 | 1.85 | 1.98 | 1.60 | 2.34 | 1.74 | 1.52 |
| 3 | A | 2.03 | 2.66 | 2.09 | 3.98 | 3.12 | 3.35 | 2.25 | 3.94 |
| | B | 1.62 | 1.60 | 1.77 | 1.93 | 2.42 | 1.68 | 1.82 | 2.23 |
| 4 | A | 1.65 | 1.92 | 1.13 | 2.57 | 1.47 | 3.34 | 0.83 | 4.12 |
| | B | 1.40 | 1.37 | 1.16 | 1.66 | 1.34 | 1.50 | 0.78 | 2.03 |

Cuadro 12. Contenido de clorofila a y b en $\mu\text{g}/\text{mL}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* con el 0% de almidón, bajo la influencia de la BAP a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| DIA | Clorofila | 10^{-6}M | | 10^{-5}M | | 10^{-7}M | | 10^{-9}M | |
|-----|-----------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| | | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. |
| 0 | A | 3.82 | 3.82 | 3.82 | 3.82 | 3.82 | 3.82 | 3.82 | 3.82 |
| | B | 1.73 | 1.73 | 1.73 | 1.73 | 1.73 | 1.73 | 1.73 | 1.73 |
| 1 | A | 1.03 | 2.67 | 1.06 | 2.82 | 1.73 | 2.43 | 1.31 | 2.91 |
| | B | 0.67 | 1.16 | 0.65 | 1.63 | 1.27 | 1.25 | 0.76 | 1.42 |
| 2 | A | 1.13 | 1.36 | 1.44 | 1.14 | 1.52 | 1.47 | 1.57 | 2.01 |
| | B | 0.80 | 0.70 | 1.17 | 0.52 | 0.73 | 1.01 | 1.43 | 1.03 |
| 6 | A | 1.28 | 2.42 | 1.40 | 3.06 | 1.58 | 2.65 | 2.02 | 2.63 |
| | B | 0.99 | 1.56 | 1.15 | 1.76 | 1.36 | 1.39 | 1.31 | 1.26 |
| 8 | A | 1.00 | 1.71 | 1.37 | 2.10 | 0.90 | 1.27 | 1.88 | 1.52 |
| | B | 0.76 | 0.66 | 1.05 | 1.17 | 0.82 | 0.69 | 1.38 | 1.01 |

Cuadro 13. Contenido de clorofila a y b en $\mu\text{g}/\text{mL}$ en segmentos de tejido de *S. queretaroensis* bajo la influencia de la CH a distintas concentraciones, en condiciones ambientales de luz (L) y obscuridad (O).

| DIA | Clorofila | 10^{-0}M | | 10^{-3}M | | 10^{-5}M | | 10^{-7}M | |
|-----|-----------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| | | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. | Luz | Obs. |
| 0 | A | 9.27 | 9.27 | 9.27 | 9.27 | 9.27 | 9.27 | 9.27 | 9.27 |
| | B | 9.35 | 9.35 | 9.35 | 9.35 | 9.35 | 9.35 | 9.35 | 9.35 |
| 2 | A | 3.53 | 4.10 | 4.46 | 4.39 | 4.73 | 2.72 | 2.90 | 3.69 |
| | B | 2.31 | 2.70 | 2.15 | 2.21 | 2.46 | 1.60 | 2.04 | 2.60 |
| 4 | A | 2.38 | 4.40 | 4.51 | 5.83 | 3.56 | 5.98 | 3.06 | 4.81 |
| | B | 2.01 | 2.70 | 2.04 | 3.00 | 2.04 | 3.06 | 2.51 | 2.85 |
| 6 | A | 2.06 | 4.74 | 4.67 | 7.09 | 2.79 | 5.24 | 2.22 | 3.94 |
| | B | 2.15 | 2.46 | 2.38 | 3.79 | 1.93 | 2.78 | 2.16 | 2.25 |
| 8 | A | 1.67 | 4.04 | 4.63 | 5.15 | 3.16 | 6.14 | 2.18 | 4.14 |
| | B | 2.82 | 2.46 | 2.67 | 2.70 | 2.17 | 3.33 | 1.78 | 2.53 |