

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE AGRONOMIA



EVALUACION DEL PROCESO DE SENESCENCIA EN PENCAS
JOVENES DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*, Mill)

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO

ORIENTACION FITOTECNIA

P R E S E N T A

MARIA LUISA GARCIA SAHAGUN

GUADALAJARA, JALISCO 1991



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE AGRONOMIA

Sección ESCOLARIDAD

Expediente

Número 0102/91

15 de febrero de 1991

C. PROFESORES:

DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS, DIRECTOR
Q.F.B. THELMA DE GUADALUPE CARRILLO RODRIGUEZ, ASESOR
Q.F.B. ANGEL PEREZ ZAMORA, ASESOR

Con toda atención me permito hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobado el Tema de Tesis:

"EVALUACION DEL PROCESO DE SENESCENCIA EN PENCAS JOVENES DE NOPAL
(Opuntia ficus-Indica, Mill)"

presentado por el (los) PASANTE (ES) MARIA LUISA GARCIA SAHAGUN

han sido ustedes designados Director y Asesores respectivamente para el desarrollo de la misma.

Ruego a ustedes se sirvan hacer del conocimiento de esta Dirección su Dictamen en la revisión de la mencionada Tesis. Entre tanto me es grato reiterarles las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
EL SECRETARIO


ING. SALVADOR PEÑA MUNGUÍA

srdr

mam



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE AGRONOMIA

Sección ESCOLARIDAD.....

Expediente

Número 0102/91.....

15 de febrero de 1991

ING. JOSE ANTONIO SANDOVAL MADRIGAL
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE

Habiendo sido revisada la Tesis del (los) Pasante (es)
MARIA LUISA GARCIA SAHAGUN

titulada:

"EVALUACION DEL PROCESO DE SENESCENCIA EN PENCAS JOVENES DE NOPAL
(Opuntia ficus-Indica, Mill)"

Damos nuestra Aprobación para la Impresión de la misma.

DIRECTOR

DR. EULOGIO PIMENTA BARRIOS

ASESOR

ASESOR

Q.F.B. THELMA DE GUADALUPE CARRILLO
RODRIGUEZ

Q.F.B. ANGEL PEREZ ZAMORA

srd'

man

Al contestar este oficio, cítese fecha y número

DEDICATORIA

- A DIOS Gracias por permitirme llegar al término de mi carrera.
- A MIS PADRES Adrián y María Luisa con amor, agradecimiento y admiración por la confianza y el apoyo que me han brindado siempre, siendo el estímulo de mi superación.
- A MIS HERMANOS Héctor Hugo, Elizabeth, Francisco, Adrián Y Julia por el cariño y comprensión que a diario me manifiestan.
- A MIS ABUELOS Francisco, María Luisa y Juana por sus sabios consejos, expresándoles mi eterno agradecimiento.
- A MI TIA Ana Rosa con cariño, por motivarme siempre en el estudio y ser ejemplo de superación.

Con admiración y respeto:

Al Dr. Eulogio Pimienta Barrios por su profesionalismo en la Investigación científica y su gran calidad humana.

AGRADECIMIENTOS

De una manera muy especial agradezco al Dr. Eulogio Pimienta Barrios, Profesor - Investigador de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara por el apoyo incondicional que durante la realización de este Trabajo de Tesis como Director me brindó.

A mis maestros Q.F.B. Thelma Carrillo, Q.F.B. Angel Pérez Zamora, Ing. Ramón Padilla S. y M. en C. Salvador Hurtado de la Peña, por compartir con sus discípulos sus experiencias profesionales y despertar la inquietud constante de superación.

Al Ing. Antonio Sandoval Madrigal por las atenciones y el impulso de superación que a los egresados de la Facultad de Agronomía otorga.

Al Ing. Adolfo Espinoza de los Monteros Director de la Facultad de Ciencias por la disponibilidad y facilidades que me permitieron laborar en el área de investigación de esta Escuela.

A los Catedráticos Q. F. B. Thelma Carrillo y Q. F. B. Angel Pérez Z. por su asesoría durante la elaboración del Estudio.

A la Lic. Rosalva Calva del Departamento de Investigación Científica y Superación Académica de la Universidad de Guadalajara por su apoyo para obtener la Beca - Tesis que me permitió elaborar el trabajo de Investigación.

Al Ing. Antonio Aguilar por la amabilidad y buena disposición con que siempre nos recibió y la facilidad de acceso a sus nopaleras, así como el apoyo del material vegetal que nos proporcionó.

A los Lic. en Biología Dalmiro García, Beatriz Alvarez, Cecilia Meri Luna y Alejandro Muñoz, compañeros tesistas por la buena disposición y amabilidad con que participaron apoyandome incondicionalmente durante el trabajo experimental de investigación.

A todas aquellas personas que integran el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara que de una u otra manera permitieron que esta investigación llegara a feliz término.

A mis amigos José Luis, Ignacio, Cecilia, Darío, Arturo, Elvia, Lino, René y Sergio por su amistad y apoyo durante mis estudios profesionales.

A mi Alma Mater la Facultad de Agronomía de la Universidad de Guadalajara por darme la oportunidad de prepararme profesionalmente.

BIBLIOTECA ESCUELA DE AGRONOMIA

CONTENIDO

	Página
1 Resumen	1
2 Introducción	3
3 Revisión de Literatura	5
3.1 Descripción del género <u>Quintia</u>	5
3.1.1 Clasificación taxonómica	5
3.1.2 Morfología de la planta	5
3.1.3 Tallo	5
3.1.4 Raíz	6
3.1.5 Flor	7
3.1.6 Fruto	7
3.2 Metabolismo y Senescencia	8
3.2.1 Modelos de senescencia	10
3.3 Factores que influyen en la iniciación de senescencia.	11
3.3.1 Genéticos	11
3.3.2 De competencia: comunicación entre órganos remotos, por espacio y por luz.	11
3.3.3 Ambientales: Temperatura, agua, luz y oscuridad.	12
3.3.4 Relación con invasión de patógenos	14
3.3.5 Relación con minerales	14
3.4 Consecuencias e implicaciones del proceso de senescencia.	14
3.4.1 Fotosíntesis	14
3.4.2 Respiración	15
3.4.3 Células y tejidos: coordinación de senescencia en tejidos, estomas y tejido vascular.	15

3.5	Cambios bioquímicos durante senescencia	19
3.5.1	Degradación de clorofila	19
3.5.2	Degradación de proteínas	20
3.5.3	Degradación de ácido ribonucleico	21
3.5.4	Degradación de azúcares	23
3.6	Revesibilidad de senescencia	23
3.6.1	Eliminación de órganos jóvenes	23
3.6.2	Reversibilidad en hojas separadas de la planta.	24
3.6.3	Control nutricional de regeneración	24
3.6.4	Regulación de la maduración	26
3.6.5	Importancia de la senescencia	26
3.7	Composición química del cladodio de <u>Opuntia ficus - indica</u> .	27
4	Materiales y métodos	30
4.1	Material vegetal y procedencia	31
4.2	Evaluación de componentes del cladodio (penca) joven.	33
4.2.1	Componentes químicos del cladodio	
4.2.1.	Clorofila total, a y b	33
4.2.1.B	Proteínas	34
4.2.1.C	pH	35
4.2.1.D	Ácidos titulable	
4.2.1.E	Azúcares totales y reductores	36
4.2.2	Componentes morfológicos del cladodio	36
4.3	Análisis Estadístico	36
5	Resultados y discusión	37
5.1	Desarrollo de síntomas	37
5.2	Evaluación de componentes químicos	39
5.3	Coefficientes de correlación entre variables de composición química, morfológica y tiempo de tratamientos de luz y oscuridad.	56
6	Conclusiones	59
7	Literatura citada	61
8	Apéndice	66

INDICE DE CUADROS

CUADRO		Página
1	Análisis químico en cladodios de Nopal % de base húmeda.	28
2	Análisis de las cenizas en muestras de <u>Opuntia ficus-indica</u> .	29
3	Contenido de celulosa en pencas de diferentes especies de nopal.	29
4	Porcentaje en peso fresco de carbohidratos en especies de Nopal.	30
5	Contenido de vitaminas en tallos tiernos de Opuntia hyptiacanta.	30
6	Composición química de 100g. de Nopalitos.	30
7	Fechas en que se realizaron las evaluaciones químicas y morfológicas en pencas jóvenes de Nopal.	33
8	Coefficientes de correlación entre las variables: clorofila, proteínas, azúcares totales, azúcares reductores, pH, acidez titulable y peso fresco en relación con el tiempo bajo condiciones de luz.	66
9	Coefficientes de correlación entre las variables : clorofila, proteínas, azúcares totales, azúcares reductores, pH, acidez titulable y peso fresco en relación con el tiempo bajo condiciones de obscuridad.	66

INDICE DE FIGURAS

No.		Página
1	Esquema que muestra las conversiones reversibles de los plastidios.	18
2	Esquema que muestra la forma en que las giberelinas del embrión inducen la síntesis de la enzima Alfa-amilasa.	25
3	Localización del área en que se ubica la nopalera evaluada.	32
4	Contenido promedio de clorofila total bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.	40
5	Contenido promedio de clorofila a bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.	41
6	Contenido promedio de clorofila b bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.	43
7	Contenido promedio de proteínas bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.	46
8	Contenido promedio de azúcares totales en pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad durante senescencia.	44
9	Contenido promedio de azúcares reductores en pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad durante senescencia.	45
10	Valores promedio de unidades de pH durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad.	48

11	Contenido promedio de ácido málico durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad.	49
12	Promedio de peso fresco durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad.	50
13	Líneas de regresión del contenido de clorofila total, clorofila a y b contra el tiempo en condiciones de luz en pencas jóvenes de nopal.	68
14	Líneas de regresión del contenido de clorofila total, clorofila a y b contra el tiempo en condiciones de oscuridad en pencas jóvenes de nopal.	69
15	Líneas de regresión del contenido de proteínas contra el tiempo bajo condiciones de luz y oscuridad de pencas jóvenes de Nopal.	70
16	Líneas de regresión del tiempo contra el contenido de Azúcares totales bajo condiciones de luz y oscuridad de pencas jóvenes de Nopal.	71
17	Líneas de regresión del contenido de Azúcares reductores contra valores de tiempo bajo condiciones de luz y oscuridad en pencas jóvenes de nopal.	72
18	Líneas de regresión de valores de pH contra días de senescencia bajo condiciones de luz y oscuridad en pencas jóvenes de Nopal.	73
19	Líneas de regresión del por ciento de acidez titulable contra días de senescencia de pencas jóvenes de nopal en condiciones de luz y oscuridad.	74
20	Relación de peso fresco con el tiempo de senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad.	75

BIBLIOTECA ESCUELA DE AGRICULTURA

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la senescencia en pencas jóvenes de Nopal (Opuntia ficus-indica, Mill) luego de someterlos a tratamientos de luz y oscuridad. Esta evaluación está orientada a conocer el comportamiento de los componentes químicos y morfológicos que durante este proceso degradativo se manifiestan.

En muestras de tejido homogeneizado de la forma evaluada en ambos tratamientos se realizaron los siguientes análisis químicos: clorofila, proteína, azúcares totales, azúcares reductores, pH, acidez titulable y peso fresco. Las evaluaciones se realizaron cuatro veces durante un periodo de 16 días en promedio por repetición.

Los resultados obtenidos revelaron diferencias en comparación con otras especies vegetales. Era de esperarse que una serie de procesos degradativos en su totalidad se manifestaran pero no fue así. En el caso del tratamiento de luz el proceso degradativo fue más lento, que en las pencas sometidas a oscuridad. Algunas pencas en luz tardaron hasta 37 días en manifestar los primeros síntomas de senescencia, que a diferencia de el tratamiento de oscuridad, a los 20 días el tejido de todo el cladodio se tornaba necrótico.

Durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal se registraron evidencias de la participación de procesos anabólicos (sintéticos) y catabólicos (degradativos) debido a que se observaron incrementos y decrementos en el contenido de: Clorofila y Azúcares totales. Los procesos anabólicos solo se registraron en las Proteínas pues su contenido se incrementó durante el proceso de senescencia.

La Clorofila **b** manifestó mayor estabilidad que la clorofila **a** al igual que su contenido en tratamiento de luz como de oscuridad. El contenido de Azúcares Reductores disminuyó durante la senescencia de las pencas jóvenes en ambos tratamientos. El pH observado manifestó un incremento mayor en luz que en oscuridad, disminuyendo por lo tanto la acidez. El

por ciento de ácido málico disminuyó gradualmente en ambos tratamientos, pero la pérdida fue mayor en oscuridad. Lo anterior indica que el proceso fotosintético se mantiene activo aun cuando en las pencas jóvenes se manifieste senescencia, y conforme la degradación avanza la actividad de éste disminuye. El peso fresco manifestó una disminución en gramos de las pencas senescentes, siendo mayor en condiciones de oscuridad que de luz, pero consideremos que los estomas de las pencas se mantienen abiertos en oscuridad y la pérdida de agua por transpiración y evaporación es mayor.

INTRODUCCION

Una característica importante de el metabolismo de las hojas y otros órganos de la planta durante su senescencia es la predominancia de procesos catabólicos, en los cuales muchos de los constituyentes complejos como proteínas y polisacáridos se degradan hacia simples productos solubles. El amarillamiento de las hojas asociado con la pérdida de clorofila es un obvio síntoma externo de vejez, a la cual usualmente precede abscisión y caída de hojas.

Es característico del determinismo del vegetal que la senescencia no es simplemente un descenso paulatino de los procesos vitales, sino un proceso o serie de procesos muy bien organizados y programados; la secuencia de degradación se ha observado durante la senescencia de hojas en las que disminuyen la actividad fotosintética y la velocidad respiratoria cambia (Beavers 1973).

Según su hábito de desarrollo las plantas envejecen de modos o maneras muy diferentes. Algunos tipos de senescencia están estrechamente correlacionadas con los eventos del desarrollo de la planta como un todo. Por ejemplo, en las plantas monocárpicas (aquellas que florecen solamente una vez y luego mueren) tienen una estrecha relación con el proceso de floración y el desarrollo de los frutos (Bidwell 1976).

La mayoría de la información concerniente al catabolismo de proteínas y otros compuestos en hojas senescentes se ha observado con hojas separadas de la planta. Bajo estas condiciones muchos de los cambios asociados con envejecimiento normal son muy acelerados; después de cortos períodos de tiempo, el amarillamiento y la descomposición de polímeros celulares (almidón, proteínas etc..) pueden detectarse enseguida (Yemm, 1956).

Experimentos con hojas disectadas de plantas de Tabaco (Vickery, Pucher, Wakman y Leavenworth 1937, citados por Yemm, 1956), varias especies de pasto (Wood y Cruickshank 1944, citados por Yemm, 1956), Cebada (Yemm 1937, 1949), Cherry laurel (Blackman citado por Shaw et al 1965), Xanthium (Osborne 1962, citado por Shaw 1965), Frijol (Chibnall y Wiltshire 1954, citado por Yemm 1956), Tropaeolum (Yemm 1956), Manzano (Kidd y West 1930), demuestran consecuentemente que un apreciable catabolismo de

proteínas, clorofila y otros compuestos orgánicos ocurre pocas horas después de que la hoja fue separada de la planta.

La senescencia tiene diferencias importantes en el grado de reversibilidad. La rápida senescencia de una hoja cortada puede revertirse y esta rejuvenecer por aplicación de citoquininas o poniéndola a enraizar. Tavares y Kende (1970), Shibaoka y Thimann (1970), Mizrahi et al (1970), Peterson y Huffaker (1975) atribuyen el retardo de senescencia por citoquininas.

Una especie vegetal que tiene un comportamiento diferente a las registradas en literatura en cuanto a acelerada actividad degradativa del contenido de componentes orgánicos durante senescencia es el nopal (Opuntia ficus-indica, Mill) cuyas pencas una vez separadas de la planta tardan varios días en manifestar los síntomas característicos de senescencia.

Por lo anterior se considerará interesante e importante estudiar el proceso de senescencia en pencas jóvenes de Nopal a través de la evaluación de componentes químicos y morfológicos que son indicadores del avance del proceso de senescencia.

La hipótesis planteada para el presente experimento fue: Si el proceso de senescencia comprende un descenso acelerado en la síntesis de compuestos y actividad degradativa de los mismos, una vez que los cladodios son separados de la planta, cabe esperar una disminución y/o pérdida rápida de sustancias poliméricas importantes debido a que la separación de cualquier órgano vegetativo de la planta estimula su senescencia.

Los objetivos que se persiguen con esta investigación consisten en evaluar el proceso de senescencia en los componentes físico y químico de los cladodios jóvenes de Nopal (Opuntia ficus-indica), bajo condiciones de luz y oscuridad y comparar las respuestas con las otras especies, además de realizar observaciones de apertura y cierre de estomas que según Park y Thimann (1990), en estudios con Cebada (Hordeum vulgare) y avena (Avena sativa) influyen en la velocidad de degradación de componentes orgánicos durante la senescencia.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Descripción del género *Opuntia*.

2.1.1 Clasificación taxonómica.

El género *Opuntia* pertenece al orden cactales, a la familia cactácea, subfamilia Opuntioidea, tribu Opuntieae y género *Opuntia* (Bravo 1978).

2.1.2 Morfología de la planta.

Los nopales son plantas fanerógamas, angiospermas, dicotiledóneas perennes. Son xerófitas perfectamente adaptadas a un medio cálido seco (Bravo, 1978). Algunas modificaciones importantes de esta especie para enfrentar estas condiciones son:

- a).- Reducción del tamaño de la lámina foliar, disminuyendo la pérdida de agua por transpiración.
- b).- Presenta hojas efímeras (30-40 días). Posteriormente siendo reemplazadas por espinas.
- c).- La epidermis del tallo se reviste de una cutícula gruesa reduciendo la transpiración epidérmica.
- d).- Presenta diferenciación de tallo fotosintético.
- e).- En la epidermis y esclerénquima del tallo presenta diferenciación de capas de cristales de oxalato de calcio que disminuyen la absorción de energía luminosa.
- f).- Presenta diferenciación de espinas y glaucidas (Pimiento, 1990).

2.1.3 Tallo

El subgénero *Opuntia* incluye numerosas especies con hábitos de crecimiento arborecente, arbustivo y rastrero, con o sin tronco bien definido. Los cladodios o tallos, son aplanados y

pueden ser de forma lanceolada, elíptica, abovada y hasta suborbicular.

Debajo de la epidermis de los cladodios se distingue una capa de color verde intenso que constituye el tejido de clorénquima que contiene cloroplastos en gran cantidad siendo allí donde se realiza la fotosíntesis.

Una de las adaptaciones más importantes es su proceso fotosintético denominado metabolismo ácido crasuláceo (MAC). Este tipo de fotosíntesis se distingue del de la mayoría de las plantas en que los estomas se encuentran cerrados durante el día y abiertos durante la noche, cuando la temperatura y el déficit de presión de vapor son ordinariamente bajos. En la fotosíntesis MAC, el CO_2 del aire es fijado a ácido málico durante la noche; este ácido se almacena en las vacuolas de las células de la corteza. Durante el siguiente periodo de luz el ácido málico es liberado de la vacuola y descarboxilado en el citoplasma para liberar CO_2 , el cual es finalmente refijado y reducido en los cloroplastos por medio del ciclo de Calvin.

Una de las ventajas de esta ruta metabólica es que se abate la pérdida de agua por transpiración, debido a que los estomas están abiertos en la noche y cerrados en el día (Kluge y Ting 1978; Whitting et al 1979).

Las especies del género Opuntia se consideran como plantas MAC obligadas. Esta aseveración está basada en que estas plantas no cambian de metabolismo fotosintético en respuesta a la aplicación de agua de lluvia o de riego (Osmond 1978).

Una modificación al metabolismo MAC ocurre cuando el déficit de agua es tan severo que los estomas permanecen cerrados en el día y en la noche, evitando la asimilación nocturna de CO_2 . En esta condición, el CO_2 producido por la respiración es reciclado a través del mecanismo MAC, de manera que una cantidad moderada de fotosíntesis continúa durante el día (Ting 1983).

2.1.4 Raíz

Pimienta (1990) menciona que los nopales tuneros presentan un sistema radical superficial y esta distribución obedece principalmente al hecho de que el nopal es propagado generalmente por vía asexual. En las plantas que se propagan por partes vegetativas las raíces pueden originarse de yemas laterales adventicias y que se distingue la dominancia de una raíz principal como ocurre en las plantas que se propagan por la vía sexual. En el nopal, las raíces se diferencian a partir de las areólicas que se localizan en la posición del cladodio que se encuentra enterrado en el suelo o en contacto con éste. En el caso de cladodios que se siembran en posición vertical, el sistema radical adquiere el aspecto de cabellera fasciculada.

2.2 Flor

Las flores del Nopal son hermafroditas, pues en la misma flor se encuentran los órganos reproductores de los dos sexos (estambres y carpelo) aunque algunas especies producen flores unisexuales por atrofia de androceo y gineceo (Felipe 1985). Generalmente se forma una flor por axila y son sésiles, naciendo hacia la extremidad o "corona" de los cladodios. El perianto de la flor presenta cambios en el color durante la apertura y cierre de ésta. Los estambres son numerosos, en cantidades que oscilan entre 480-500 en Opuntia robusta, y se encuentran insertos en la cavidad receptacular u ombligo. El estilo es ensanchado en la base y termina en un estigma lobulado amplio; es hueco y presenta un canal con epidermis glandular en la que se desarrollan los tubos polínicos. El ovario es infero y está rodeado por un tejido vegetativo que se interpreta como el receptáculo, el cual, a la madurez del fruto constituye la cáscara (Pimienta et al 1985). En la cavidad del ovario se diferencian los óvulos, que se encuentran dispuestos en una placentación parietal (Pimienta y Engleman 1981).

Un aspecto distintivo de la flor del Nopal es que es efímera; se abre y se cierra el mismo día. Se distinguen dos tipos de flores (flores del tipo A y tipo B), en relación con la hora del día en que ocurre la apertura y los días que permanecen abiertas (Pimienta 1990).

2.3 Fruto

El fruto del nopal tunero ha sido descrito como una baya unicelular, polispermica y carnosa que se origina de una flor con ovario infero (Bravo, 1978) cuyos óvulos están dispuestos en una placentación parietal (Pimienta y Engleman 1981). Un estudio reciente sobre el desarrollo de la porción comestible del fruto (pulpa) reveló que ésta se origina de células papilares de la epidermis dorsal de la envoltura funicular y el funículo. La envoltura funicular constituye con 90% de la parte comestible y el funículo con el 10% (Pimienta y Engleman 1983).

La envoltura funicular de las semillas abortivas es capaz de desarrollar pulpa, al igual que la envoltura de las semillas normales (Pimienta 1990).

Estudios anatómicos comparativos contra la cáscara y el cladodio mostraron que anatómicamente son similares, por lo que se considera que la cáscara (receptáculo) es como un tallo modificado (Pimienta y Engleman, 1985).

Varios experimentos han revelado que el fruto de tuna presenta comportamiento respiratorio similar al de los frutos cítricos, por lo que ha sido clasificado como un fruto climatérico (Alvarado, 1978; Lakshminarayana y Estrella, 1978).

En las paredes exteriores del ovario puede haber escamas de diversos colores y tamaños que crecen junto con el fruto, dando

origen a espinas, lana, cerdas y gláquidas (Cactáceas en enciclopedia de México, 1979).

2.4 Metabolismo y Senescencia

El metabolismo es la suma de todas las reacciones en que participan muchos sistemas enzimáticos mutuamente relacionados, que intercambian materia y energía entre los organismos y su ambiente, teniendo lugar en una célula, órgano u organismo. Sus principales finalidades son:

- a) Obtención de energía química de las moléculas combustibles o de energía solar.
- b) Convertir los nutrimentos exógenos en unidades de construcción o precursores de los componentes celulares macromoleculares.
- c) Ensamblar dichas unidades de construcción para formar proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y otros componentes.
- d) Formar y degradar biomoléculas necesarias en las funciones especializadas de las células.

Cualitativa y cuantitativamente la fotosíntesis es el proceso metabólico más importante que se verifica en la tierra. Lo anterior se pone de manifiesto si consideramos que directa o indirectamente, todos los organismos incapaces de realizar por sí mismos el proceso fotosintético viven de la producción de las plantas, lo que hace posible la vida como la conocemos actualmente.

Este proceso inicia cuando la luz incide sobre la hoja y excita dos diferentes sistemas fotosintéticos: el sistema de pigmentos P I y el sistema de pigmentos P II. El sistema P I es excitado por la luz de más de 685 nm (nanómetros) y como resultado de la absorción de fotones, los electrones (e^-) de la clorofila *a* y carotenoides salen de las orbitas alejadas del núcleo para ser capturadas por la ferredoxina (ferredoxina es un nombre genérico que designa una proteína con hierro) la ferredoxina pasa estos electrones a una reductasa que los transmite al NADP (dinucleótido de adenina nicotinamida fosfatado) el cual queda reducido; para guardar el balance interno de la molécula, el NADP (dinucleótido de adenina nicotinamida fosfatado) al aceptar un e^- , debe también aceptar un H^+ , con lo cual queda como NADPH. Al incidir sobre el cloroplasto la luz excita también el sistema de pigmentos P II que, como sucede en P I, absorbe la energía del fotón y excita electrones. La gran descarga de energía que significa esta pérdida de e^- es empleada para romper la molécula de H_2O , descomponiéndose el mecanismo del tenésamo; los electrones son aceptados por un compuesto: la plastoquinona. A partir de aquí se encuentra una cadena de aceptores intermedios de e^- , que se van reduciendo y oxidando conforme captan y despiden e^- en un gradiente descendente de energía, el

cual termina con la aceptación de e^- del sistema de pigmentos P1, que restaura así su integridad intramolecular. En el paso de e^- a través de aceptores con potenciales redox decrecientes, el excedente de energía es empleado para efectuar la síntesis de ATP (trifosfato de adenosina) molécula que lleva alto contenido energético en su tercer fosfato (P) en forma de pirofosfato (-P).

El proceso termina, pues, con la síntesis de dos moléculas con alta energía: el NADPH₂ (dinucleótido de adenina nicotinamida fosfatado deshidrogenasa) y el ATP (trifosfato de adenosina); para hacerlas ha habido una fotólisis del agua, y en resumen, la energía luminica ha quedado atrapada en la célula y se habla ahora de energía metabólica (Rojas 1985).

La síntesis de moléculas con H₂ en forma activa y con alta energía en forma de -P (pirofosfato) capacita a la célula para sintetizar una molécula donde queda la energía almacenada a su disposición; esta síntesis incluye la asimilación de CO₂ (bióxido de carbono) del aire.

Las transformaciones de los compuestos químicos hasta llegar a glucosa y almidón han incluido el llamada ciclo de Calvin. El CO₂ es aceptado por una molécula con 5C, el difosfato de ribulosa y se forma una molécula de 6C que se rompe en dos moléculas de ácido fosfoglicérico; estas transformaciones no necesitan luz y se llaman la reacción oscura. Posteriormente el ácido fosfoglicérico, por acción del NADPH y el ATP formados en la reacción de luz, pasan al aldehído fosfoglicérico. Este puede tomar varios caminos entre ellos formar difosfato de fructosa o bien fosfato de ribulosa, azúcar de 5C que se transforma en difosfato de ribulosa para cerrar el ciclo. A partir de la ribulosa y una serie sucesiva de reacciones se constituye toda la materia orgánica que comprende otros azúcares, almidones, grasas, proteínas, aminoácidos, esteroides, etc., que se almacenan en los vegetales, pudiendo ser desintegrados, con la liberación de energía sirviendo de alimento al hombre y muchos animales (Rojas 1985).

Una vez que la hoja ha cumplido durante cierto tiempo su función como órgano activo y valioso donde se realizan la mayor parte de las funciones vitales de fabricación de alimentos, transpiración y evaporación inicia una serie de eventos relacionados con el desorden celular y la movilización de materiales orgánicos finalizando con la muerte, a los cuales se les denomina senescencia (Thomas et al 1980).

En el metabolismo y contenido de los órganos en senescencia tienen lugar cambios. Se ha observado un decrecimiento en el DNA (ácido desoxiribonucleico), RNA (ácido ribonucleico), proteínas, iones inorgánicos y varios nutrimentos orgánicos. Ocurren cambios profundos en la velocidad de ciertas reacciones metabólicas, por ejemplo la fotosíntesis decrece un poco antes que inicie la senescencia y la destrucción de la clorofila no ocurre sino hasta mucho más tarde; poco después se advierte un climaterio **respiratorio**.

La senescencia es un proceso programado. Las plantas no se van desintegrando o deshaciendo al envejecer; envejecen igual que se desarrollan, de modo ordenado (Bidwell, 1976).

2.4.1 Modelos de Senescencia

Según se hábito de desarrollo, los vegetales envejecen de modos o maneras muy diferentes. Puede ser que se vuelvan seniles o mueran como un todo al mismo tiempo, como ocurre en muchas plantas anuales después de la floración, o bien puede ocurrir una senescencia progresiva de las diferentes partes activas y en estado juvenil (generalmente las partes apicales del tallo y raíz) en tanto que las partes más viejas (particularmente las hojas viejas) se vuelven seniles y mueren.

También puede ocurrir una senescencia simultánea o secuencial de una parte de la planta (como la parte aérea de perennes o bianuales invernantes, o las hojas de un árbol decíduo), en tanto que el resto queda vivo. Finalmente, durante el proceso de maduración de los tejidos, las traqueidas o el tejido esclerenquimatoso pueden hacerse seniles y morir aunque la planta como un todo siga aún creciendo vigorosamente (Bidwell, 1976).

Al considerar los diferentes tipos de senescencia la regulación de ésta es más refinada cuando se comparan hojas de especies diferentes. En algunas la región distal de la hoja es la primera en senescer, mientras en otras especies la senescencia comienza en el área basal de la hoja.

El efecto total de la regulación interna de senescencia es que las células y órganos dentro de la planta tienen diferentes tiempos de vida y diferentes especies muestran variación en longevidad (Beavers, 1973).

Los modelos de la senescencia tienen diferencias importantes tanto en las causas y naturaleza de sus procesos como en el grado de reversibilidad. Algunos tipos de senescencia están estrechamente correlacionados con los eventos del desarrollo de la planta como un todo. Por ejemplo, en las plantas Monocárpicas (aquellas que florecen solamente una vez y luego mueren) tienen una estrecha relación con el proceso de floración y el desarrollo de los frutos. Si se quitan las flores o los frutos la senescencia puede ser retardada por muchos años antes de florecer, pero cuando fructifican, mueren (por ejemplo, el agavey o Agave). Pero algunas plantas perennes como el pino de las montañas de California puede alcanzar los 5,000 años.

Entonces, por una parte, la senescencia siguiente a la fructificación o la senescencia de la flor después de la fertilización es aparentemente irreversible y es una consecuencia inevitable de la floración o fructificación (Bidwell, 1976).

2.5 Factores que influyen en la iniciación de senescencia

2.5.1 Genéticos

La senescencia es una parte integral en el desarrollo de la hoja y por lo tanto sujeta, como parte del proceso de desarrollo al control genético. El desarrollo de las células de las hojas es una expresión de la interacción entre el genoma de los núcleos y el cloroplasto (Thomas y Stoddart, 1980).

A través del tiempo las hojas son llevadas a la maduración, el genoma del plastidio llega a ser casi completamente reprimido, por lo tanto declina la fotosíntesis, cesa la síntesis de proteína y ácidos nucleicos encabezando la desintegración del plastidio y la senescencia visible (Woolhouse y Batt, 1975) citado por (Thomas et al 1980).

En una serie de elegantes experimentos Yoshida (1961) demostró que la senescencia en los cloroplastos de Elyda densa es bajo control nuclear. Las células del mesófilo fueron plasmolizadas por inmersión de hojas jóvenes de Elyda en una solución 0.2M de $CaCl_2$. Algunas células contenían protoplastos que estaban separados casi en 2 parte iguales. Una con núcleo y otro sin núcleo. Se hicieron observaciones al microscopio durante ocho días de cultivo. Se observaron cloroplastos en protoplastos nucleares bajo completa senescencia y destrucción; sin embargo, los cloroplastos en protoplastos enucleados (sin núcleo) presentaron retardo en senescencia indicando por una reducción mas lenta del color verde y además acumularon almidón por un tiempo de 5 días. De los componentes individuales de el síndrome de senescencia la mayor evidencia de el control positivo del genoma nuclear es la degradación de clorofila (Thomas, 1975).

2.5.2 De Competencia

Comunicación entre órganos remotos

Los diferentes órganos de una planta desarrollada compiten con otros por espacio, luz, movilización de nutrientes y reguladores de crecimiento. La fuerza de competencia entre órganos representa una forma del sistema de comunicación que dicta el crecimiento y la forma de la planta bajo una extensión que ellos pueden expresar como influencias morfogénicas. Entonces el síndrome de senescencia puede ser inducido en una hoja dada como consecuencia directa de su posición relativa y la competencia entre órganos (Thomas y Stoddart 1980).

Competencia por espacio:

En pastos, cereales y muchas otras monocotiledóneas, cada hoja nueva se desarrolla dentro de la vaina de la hoja previa. Como las nuevas hojas continúan siendo producidas, las vainas de las primeras hojas tienen un acomodo que incrementa el apilamiento del tejido de hojas jóvenes dentro de ellas. La vaina llega a ser un área de estrés y puede responder al propio

comienzo de la secuencia de senescencia seguido por la senescencia de la lámina (Halperin, 1978).

Competencia por luz:

La senescencia tiene un curso lento en luz, mas que en oscuridad. Una nueva consecuencia de la intercepción de la luz por hojas superiores es una alteración en la calidad de la luz que penetra a distintos niveles de una dosel vegetal (Thomas y Stoddart, 1973).

En el caso del Nopal (*Opuntia ficus-indica*) conforme la planta se desarrolla y madura, se observa un entrecruzamiento de cladodios en diferentes posiciones y altura de la planta, lo que da como consecuencia que se incremente el sombreado interno de la planta, ya que por el grosor de los cladodios se reduce la transmisión de luz o el paso de luz a las pencas internas. Esto condiciona que las pencas externas tengan un aprovechamiento óptimo de la radiación solar, por lo que las pencas internas con el tiempo son menos productivas. Los cladodios internos muestran pérdida gradual de clorofila, lo que finalmente reduce su actividad fotosintética (Pimienta, 1990).

2.5.3 Ambientales

Temperatura

La exposición a temperaturas adversas en cualquiera de los altos y bajos rangos puede iniciar el comienzo de amarillamiento, presumiblemente como una consecuencia de daño estructural o metabólico. El síndrome de senescencia seguido de congelación puede ser adelantado debido a la rápida disminución de la integridad celular producida por el proceso congelación-deshielo y en estas circunstancias el orden de desensamble de la estructura de la hoja puede ser adelantada por herida necrótica, colapso celular o invasión de patógenos.

Bajas temperaturas pueden también interactuar en otras variables ambientales como baja intensidad de luz llevando hacia una respuesta probable de senescencia. El estrés en el calor también resulta, en aceleración de envejecimiento de la hoja; aplicado selectivamente al sistema de raíces causa desarrollos anormales y senescentes. La exposición de hojas de *Nicotiana* y *Endisatum* a temperaturas del orden de 50°C por únicamente unos minutos resulta en una aceleración de amarillamiento y degradación de proteínas (Mothes et al 1964), citado por (Bidwell, 1976).

En Vigné una exposición de 16 hrs. a altas temperaturas (45°C) fue suficiente para retener permanentemente el desarrollo de cloroplastos (Feierabend y Nikus, 1977 citados por Thomas (1980).

Agua

La aceleración de envejecimiento en hojas de Helianthus y Nicotiana sugiere una variación en categorías de sequía, con énfasis en el incremento en la velocidad de descomposición de proteínas y respiración (Mothes 1928, citado por Thomas (1960).

Las plantas de Panicum sugieren un ciclo corto de estrés con fluctuaciones del contenido de agua en el suelo entre 25% y 55% (0.15 a 0.1 bar) demostrando un acelerado envejecimiento en las hojas maduras (Hsiac, 1973).

Luz

En hojas separadas de la planta se ha observado que sus hojas iluminadas senescen a una velocidad más lenta que las que se conservan en obscuridad. Para explicar la rapidez del proceso comparando hojas unidas y cortadas de la planta, se propuso asociar la reducción de carbohidratos contenidos con el proceso de senescencia. Sin embargo, Chibnall (1939) presenta datos en los que no hay relación directa entre el estado de carbohidratos solubles de la hoja y el comienzo de senescencia; esto hace poco probable que el retardo de senescencia se relacione a la producción de fotosintatos en hojas separadas (Beevers, 1973).

La relación entre retardo de senescencia e intensidad de luz ha sido descrito en discos de hojas de frijol y en secciones de hojas de Avena (Thomas y Stoddart 1975).

Sugiura (1963), demuestra que el retardo de la pérdida de proteínas y clorofila en discos de hojas de tabaco por luz roja fue superado por iluminación con luz roja-lejana, esto indica que el retardo de la senescencia por luz involucra al pigmento fitocromo.

Obscuridad

Durante la obscuridad inducida los procesos catabólicos de los compuestos orgánicos en los vegetales son más acelerados. En hojas de Arabidopsis thaliana sometidos a obscuridad hubo pérdida de pigmentos, siendo paralela a la pérdida de proteínas solubles. En el caso de proteínas no solubles en agua y componentes sulfhídricos tuvieron un incremento durante las primeras 48 horas y luego decrecieron. La clorofila fue degradada más rápido que los carotenoides (De Kok y Graham 1989).

En hojas separadas de la planta se observó un aumento en aminoácidos pudiendo incrementarse hasta en un 200% antes de 48 horas de incubación en la obscuridad.

La clorofila a fue degradada más rápidamente que la clorofila b (De Kok y Graham, 1989).

Patógenos

La presencia de patógenos dentro de una hoja puede provocar el retardo o aceleración de senescencia (Udvardy et al 1967, citado por Thomas, 1980).

La infección con Helminthosporium induce incrementos en la actividad de peroxidasa, ocurriendo algo similar durante la senescencia en hojas de Falcaria (Vance et al 1976).

Extractos de agua de conidios de Erysiphe graminis puede inducir la formación de islas verdes rodeadas por halos cloróticos. El fenómeno se cree que se debe a secreciones por el patógeno de componentes de bajo peso molecular biológicamente activos los cuales pueden actuar como citoquininas en el tejido del hospedero, fijando un retardo localizado de senescencia (Hothea 1970).

El nivel de intervención en el que los virus actúan a inducir amarillamiento es desconocido, pero se ha observado que al aplicar citoquininas en hojas infectadas por virus de Brassica pehicensis se suprimen los síntomas y la velocidad de multiplicación del patógeno (Berridge y Ralph 1969, citados por Thomas y Stoddart 1980).

Nutrientes minerales

El fisiólogo alemán Molisch sugirió en la década de 1920 que la senescencia podía estar causada por deficiencias nutricionales. Este investigador notó que si se quitan los frutos, semillas o ápices en crecimiento, la senescencia en otras partes de la planta se retarda (Bidwell, 1976). Esto es particularmente relacionado a la movilización de elementos como Nitrógeno, Potasio, Fósforo, Magnesio, Sodio y Cloro (Derman et al 1978, citado por Thomas et al 1980). Por contraste, los síntomas de deficiencia son confinados a tejidos jóvenes, especialmente cuando los nutrientes presentan baja movilidad como es el caso del Calcio, Boro y Hierro.

2.6 Consecuencias e implicaciones del proceso de Senescencia

2.6 Fotosíntesis

En el metabolismo y contenido de los órganos en senescencia tienen lugar cambios profundos en la velocidad de ciertas reacciones metabólicas. La fotosíntesis decrece un poco antes que inicie la senescencia y la destrucción de la clorofila no ocurre sino hasta mucho más tarde; probablemente esto se debe a la reducción en la demanda de productos fotosintetizados que controlan la tasa de fotosíntesis hasta cierto punto. Pero conforme empieza la senescencia y decrecen las proteínas y la

clorofila, ocurre mayor declinación de la fotosíntesis (Bidwell, 1975).

Esta disminución en la capacidad fotosintética se expresa como una medida de la capacidad para fijar CO_2 (Woolhouse 1967, citado por Beever 1975). Se tienen pocos estudios que apuntan al descubrimiento de la secuencia en la cual las reacciones parciales de fotosíntesis son restringidas. Peterson y Huffaker en 1975 mencionan que durante la senescencia de hojas separadas de Cebada la disminución en ribulosa 1,5-difosfato carboxilasa es acompañado por un incremento en la actividad proteolítica.

Los estudios ultraestructurales de Butler y Simon en 1971 demuestran que hay una alteración o destrucción de tilacoides y una acumulación de grandes gránulos osmofílicos en el estroma de cloroplastos.

2.6.2 Respiración

Por lo general la actividad respiratoria es mantenida a una velocidad completamente constante hasta la fase terminal de la senescencia, cuando una rápida disminución de la respiración ocurre (James, 1953). Durante toda la senescencia sin embargo, los cambios en el cociente respiratorio, indican que conforme progresa la senescencia se tiene un cambio en sustrato respiratorio. Los cambios en el cociente respiratorio están asociados con el incremento en la utilización, como sustratos respiratorios a los aminoácidos que se acumulan en las hojas separadas (James 1953; Chibnall 1939, citados por Beever 1975).

Hanson's y un grupo de investigadores demostraron la inhibición de la actividad mitocondrial por ácido linoléico (Baddley y Hanson, 1967). Es posible que el metabolismo respiratorio en vivo sea inhibido en forma similar por los ácidos grasos que se acumulan durante la descomposición de cloroplastos. En las observaciones de Baddley y Simon (1969) la actividad mitocondrial es inhibida por extractos acuosos de hojas senescentes siendo consecuentes con esta proposición. Las propiedades inhibitorias de los extractos son atribuidos al contenido de ácidos grasos libres, incrementados con la edad de la hoja.

2.6.3 Células y Tejidos

Coordinación de senescencia en tejidos

Cada uno de los tejidos de la hoja tiene sus propio patrón de senescencia, y no necesariamente se sincroniza con la del mesófilo. En el xilema la muerte del contenido celular ocurre en un estado primordial; y los elementos del floema además experimentan un proceso de degradación durante la maduración (Butler y Simon 1970, citado por Thomas y Stoddart 1980).

En el endocarpio de hojas de frijol Rhee, Sacher (1967) reporta que los cambios en la permeabilidad celular fueron precedidos por una disminución en la capacidad de síntesis de RNA y proteína. En contraste, en plátano cambios significativos en permeabilidad y compartimientos protoplásmicos preceden a la pérdida de ácidos nucleicos y proteína asociadas con maduración de fruto. Estos cambios en la permeabilidad pueden contribuir a la característica aceleración de la respiración, la supuesta "respiración climaterica" que precede a la maduración y senescencia en muchas frutas (Rhodes, 1970, citado por Beavers, 1975).

Por lo tanto las células senescentes sufren una reducción de su estructura y la mayoría de las inclusiones celulares se rompen (Bidwell, 1976).

Estomas

Todo tejido de cada hoja tiene su propio programa de senescencia. La condición y función de este tejido puede también ejercer una mayor o menor influencia directa en la senescencia del mesófilo. La relación entre apertura de estomas y la respuesta de discos de hojas a citoquininas fue examinado por Iuraishi (1976).

En experimentos subsecuentes en Avena, Satler y Thimann citados por Park y Thimann (1990), establecen que secciones de hojas en que se retarda su amarillamiento a través del efecto de luz, temperatura, citoquininas, ciclohexamida o fusicoccin se debe a que estos compuestos mantienen el estoma en la posición abierta. El decremento de la apertura estomatal parece no ser la causa de la disminución de la velocidad fotosintética que ocurre en hojas adultas en plantas intactas (Moolhouse y Ratt 1976).

Park y Thimann (1989), observaron que la síntesis de una o más proteínas controla la apertura y cierre de estomas. En un experimento, en que evaluaron el efecto del antibiótico Kanamicin en la apertura de estomas en condiciones de luz y oscuridad, encontraron que en ambos tratamientos a que se sometieron hojas de Tropaeolum se manifestó apertura estomática. En el caso de la Cebada y con el uso de antibióticos se observó que la clorofila es protegida en la oscuridad y la resistencia a la difusión es baja cuando el estoma está abierto. Inversamente en la luz, la clorofila es destruida y la resistencia a la difusión incrementada cuando el estoma está cerrado (Park, 1984).

Estos cambios en apertura y cierre de estomas en la mayoría de los casos mantienen la relación con la descomposición o preservación de clorofila, la excepción ocasional de Tropaeolum demuestra que el fenómeno bioquímico de senescencia no puede ser bajo el control directo de cambios en la apertura estomatal (Park y Thimann, 1990).

Tejido Vascular

El estado de una hoja cambia de una fuente de Carbón en la maduración, a una fuente mineral durante la senescencia.

El correspondiente cambio en la composición de la savia del floema predominantemente de carbohidratos a aminoácidos en su mayoría se ha demostrado en un número de especies. Estos cambios en traslocación son regulados por modulación en el transporte específico del mismo sistema vascular. Esto concluye que la disminución en carbohidratos exportados en la hoja la hace senescente como resultado de reducción en la velocidad fotosintética. En la hoja madura sin embargo, parece ser que casi no hay movimiento de aminoácidos entre los tubos y células del mesófilo (Thrower 1967, citado por Thomas et al, 1980).

2.6.4 Organelos

Cloroplastos

La pérdida de integridad del plastidios es una de las primeras facetas visibles de senescencia en la hoja (Butler y Simon, 1970). El evento inicial en la senescencia parece ser un cambio en las características de la envoltura principal de membranas que separan el interior y el exterior. El desensamble de plastidios es mediado por agentes sintetizados en el citoplasma, y cambios en la integridad pueden ser probablemente vistos como eventos iniciales en la incursión del proceso. El ingreso de enzimas degradantes puede ser una consecuencia de la disminución de componentes de membranas que normalmente previenen este proceso. Se sabe que las enzimas están asociadas con la maduración de cloroplastos en la superficie exterior (Daigara et al 1979, citado por Stoddart et al, 1980).

La membrana protéica de los cloroplastos es rápidamente degradada durante el amarillamiento. Las proteínas de tilacoides son divididas dentro de 2 grupos designados como intrínsecas y extrínsecas, sugiriendo que la desintegración de cloroplastos envuelve la acción de por lo menos 2 sistemas proteolíticos, uno actúa en el estroma y proteínas de las membranas externas de la cubierta del cloroplasto y la otra en la degradación de las membranas internas de los tilacoides, incluyendo clorofila (Thomas, 1977).

Mitocóndrias

Estudios ultraestructurales de Butler y Simon (1970) indican que la mitocóndria persiste en un estado intacto, excepto para algunos hinchamientos o distorsiones durante el proceso de senescencia, éste se apoya por estudios de respiración y actividad de enzimas en la mitocóndria durante el envejecimiento en acciones de hojas (Fetley y Ihmann, 1974).

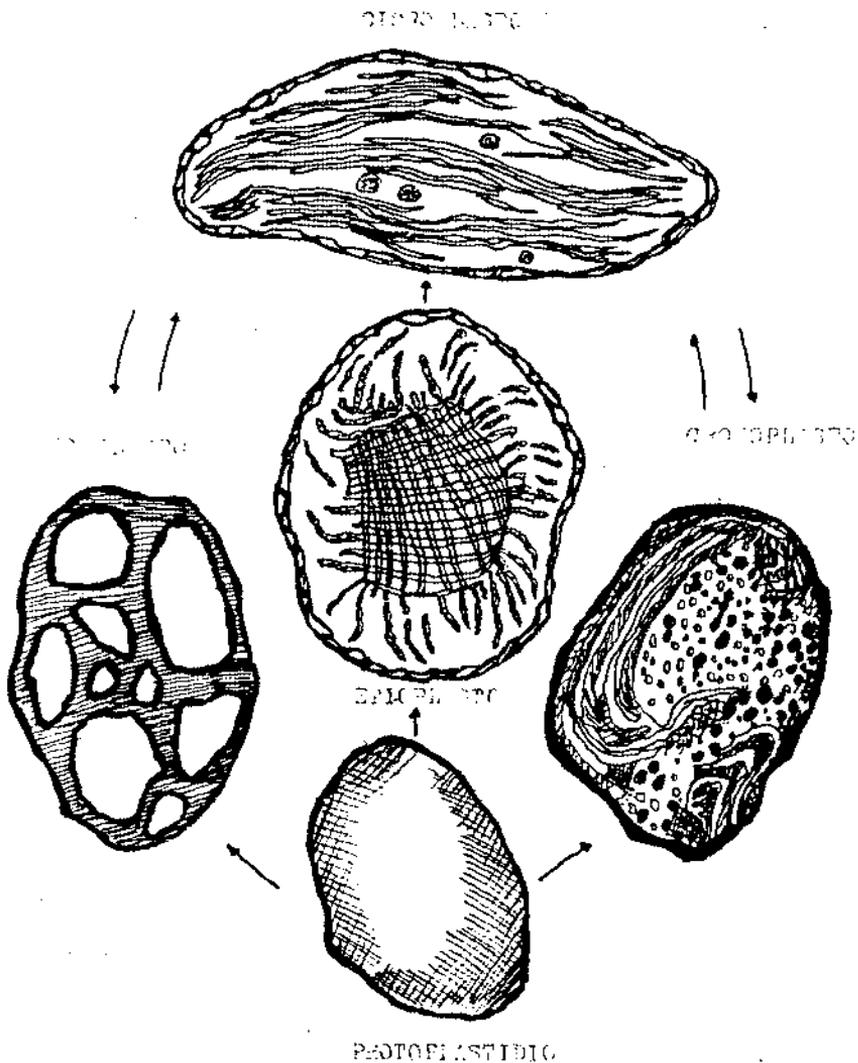


FIGURA 1 Esquema que muestra las conversiones reversibles de los plastidios; al fondo y al centro, proplastidios; al centro, etioplasto; arriba y al centro, cloroplasto; a la izquierda, leucoplasto y a la derecha, cromoplasto.

Núcleo

El núcleo intacto es visible en las células de hojas aún en estado avanzado de amarillamiento (Butler, 1970). El nucleolo llega a ser menor frecuentemente con el envejecimiento y el contenido nuclear tiende a agregarse (Stoddart, 1980).

Vacuolas

Bidwell (1976) menciona que se ha sugerido que la vacuola actúa, como lisosoma secretando enzimas hidrolíticas durante la senescencia, las cuales digieren el material celular que ha dejado de ser necesario.

Kende y Boller (1979) localizaron un rango de hidrolasas en vacuolas de protoplastos de hojas de Ananas que incluye β -glucosidasa fosfatasa, nucleasa y proteasa.

Durante la senescencia el tonoplasto se rompe antes de que los organelos sean completamente desintegrados (Beevers, 1973).

3.7 Cambios Bioquímicos durante Senescencia

3.7.1 Degradación de Clorofila

Quizás el componente ideal del proceso de senescencia para usar en una investigación semejante sea descomposición de clorofila, desafortunadamente la enzimología de descomposición de clorofila durante la senescencia es poco conocida. Realmente algunos autores dudan si este es un proceso enzimático (Holden (1974); Simon (1967), citados por Beevers, 1976). La enzima clorofilasa probablemente funciona predominantemente en la síntesis de clorofila según Shimizu (1963), no obstante se ha reportado que las funciones sintéticas e hidrolíticas son atribuibles a dos o más enzimas.

El pH ácido promueve en parte la descomposición de clorofila y proteína en el cloroplasto de las hojas de Avena (Tetley y Ihmann, 1974).

Contenido de clorofila en diferentes estados de senescencia de hojas de Prunus pérsica :

Estado	Total Cl (Mg/cm ²).
I verde	32
II Verde-amarillo	17
III amarillo-verde	6
IV amarillo	0.7
V muerto	-

Naosuke Nii et al (1988).

3.7.2 Degradación de Proteína

La disminución en el contenido de proteína durante la senescencia acoplada con la acumulación observada de aminoácidos en hojas separadas indica que la normal renovación es detenida de alguna forma durante la senescencia de hojas. Un decremento en la síntesis de proteína o incremento en la degradación de estas guarda relación con la disminución en el contenido de proteínas. Simon (1957), citado por Beevers (1964), indica que en hojas en la planta, la reducción de aminoácidos probablemente juega un papel clave en inducir una disminución en el contenido de proteína. Esto parece ser particularmente verídico en el caso de la senescencia secuencial, donde los aminoácidos son trasladados fuera de hojas viejas a las regiones de crecimiento activo y desarrollo. Otros trabajos están sujetos a la gran importancia de la disminución en la capacidad de sintetizar proteínas como una prueba de la iniciación de senescencia.

En el curso de la clara disminución en la capacidad de incorporar un suministro exógeno de aminoácidos también ocurre que los productos sintetizados se hidrolizan más rápidamente en el tejido senescente. Si esto ocurre, la pérdida de proteína durante la senescencia puede ser interpretada como un incremento en la velocidad de degradación más que un decremento en la capacidad para sintetizar proteínas (Beevers, 1969).

Anderson y Rowan (1965), citado por Beevers (1973), describen una peptidasa en hojas de Tabaco la cual hidroliza proteínas. Beevers (1968), también reporta la ocurrencia de una enzima similar en hojas de Nasturtium.

Existe la posibilidad de que otras enzimas proteolíticas no detectadas por los ensayos, pueden incrementar durante la senescencia. De hecho Balz (1966) ha reportado la ocurrencia de una proteasa ácida (Hemoglobina hidrolizada a pH 3.5) en plantas de tabaco. Inmediatamente después de separar las hojas hay una producción de una particularmente nueva proteasa ácida, la cual aparece al final en la fracción soluble. Tratamientos de las hojas con cinetina demoran la síntesis de la proteasa ácida y otras enzimas hidrolíticas, y la senescencia se atribuye a la degradación de el citoplasma debida a la acción hidrolítica de enzimas relacionadas con la partícula subcelular, el esferosoma.

La descomposición de proteína durante la senescencia es un evento controlado y no una lisis descontrolada. No todas las proteínas son degradadas a la misma velocidad. Axelrod y Jagendorf (1959), citados por Beevers (1973), inicialmente demostraron que la actividad específica de varias enzimas hidrolíticas y peroxidasas se incrementa durante la senescencia.

de hojas separadas de tabaco, lo cual se acompaña por reducción del total de proteínas.

Peterson y Huffaker (1975) observaron en un experimento de senescencia de hojas separadas de Cebada, que la mayor parte del total de proteína soluble perdida fue a causa de una disminución en la actividad de la ribulosa 1,5-difosfato carboxilasa.

3.7.3 Degradación de Acido Ribonucleico (RNA)

La disminución característica en el contenido de proteína en hojas senescentes se acompaña por una disminución similar en el contenido de Acido ribonucleico (Shaw et al 1965, citado por Park y Thimann, 1990). La disminución del contenido de RNA durante la senescencia se relaciona a un decremento de la capacidad para sintetizar RNA (Osborne, 1962; Wollgiehn, 1967; Sacher, 1967; Beevers, 1968, citados por Beevers 1973).

Trewavas (1970) indica que benziladenina incrementa la síntesis de RNA en Lemna, mientras el ácido abscísico reduce marcadamente la velocidad de síntesis. Esta observación implica que la senescencia es regulada a un nivel transcripcional.

Antes que recurrir a una reducción de síntesis otros autores atribuyen la disminución en el contenido de RNA durante la senescencia a un incremento en ribonucleasa (RNase).

La acumulación observada de ribonucleasa con cinetina (Sodek y Wright, 1969) citado por Beevers (1973) o incrementada con ácido abscísico (Udvardy y Farkas, 1972) apoya ésta proposición.

Dificultades adicionales en asociar niveles de ribonucleasa con el comienzo de senescencia se encontraron en observaciones de Sodek y Wright (1969) y Udvardy et al (1967) en los que los niveles de ribonucleasa en hojas separadas de trigo iluminadas, y hojas de avena fueron más altas que en hojas separadas mantenidas en la obscuridad. No obstante a pesar de el aumento en los niveles de ribonucleasa, las hojas iluminadas presentaron una disminución mas lenta de clorofila que las mantenidas en la obscuridad.

Una complicación en relacionar la actividad de ribonucleasa con el inicio de la senescencia surge de el hecho de que menos de 2 enzimas son capaces de hidrolizar RNA en el tejido de la hoja. El incremento en la actividad de las enzimas solubles fue prevenida por ciclohexamida (Udvardy et al, 1969) citado por Beevers (1973). Esto se apoya al notar que el más rápido incremento en ribonucleasa ocurre luego de 2-3 días de separación de estas (Sodek y Wright, 1969, citados por Beevers, 1973), después de iniciar la descomposición de proteínas, RNA y

clorofila. Otra vez, sin embargo, existe la posibilidad de que la degradación de RNA sea realizada sin algún incremento mayor en el contenido de ribonucleasa en el tejido.

La célula de una planta madura contiene suficiente RNase para degradar todo el RNA celular en únicamente pocas horas (Lewington et al 1987). De este modo la disminución del contenido de RNA observado durante senescencia puede ser llevada a cabo por un incremento en la accesibilidad de la enzima existente en este sustrato.

3.3.4 Degradación de Azúcares

Durante la senescencia los niveles de azúcares disminuyen (Kar y Choudhu, 1985, citado por Naosuke et al 1988).

En el panorama de la naturaleza que regula la senescencia, es lógico el determinar los mecanismos por los cuales los procesos son controlados. Para este propósito extensos estudios han sido hechos en hojas separadas o discos de hojas. Tal material usualmente senesce a una velocidad acelerada en comparación a hojas unidas a la planta. En los primeros intentos por relacionar esta acelerada senescencia, se consideró que en las hojas separadas esto se asocia con la reducción de los niveles de carbohidratos, normalmente suministrados por la planta, las cuales, las hojas separadas de la planta no pueden sustituir. Sin embargo, se ha demostrado que no existe una relación directa entre metabolismo de carbohidratos solubles de la hoja y el comienzo de senescencia (Chibnall, 1939).

Durante la maduración de frutos, se observa disminución en el contenido de ácidos orgánicos e incremento en azúcares (Coombe, 1976, citado por Delgado, 1985).

3.6 Reversibilidad de Senescencia

3.6.1 Eliminación de órganos jóvenes

Las diferentes partes de la planta compiten por nutrientes y los frutos y ápices en desarrollo, por ejemplo, pueden crear una mayor demanda en el transporte y acumulación de, estos de tal manera que las hojas sufren por su carencia. El fisiólogo alemán Molisch notó que si se quitan los frutos, semillas o ápices en crecimiento la senescencia de otras partes de la planta como las hojas se retarda mucho (Bidwell, 1976).

Nicotiana es una especie clásica a regenerar. Las hojas son las primeras en senescer en plantas maduras pudiendo ser estimuladas a regenerar por remoción de partes o todos los brotes superiores en colocación a ella (Avery, 1934; Mothes, 1970; Woolgiehn, 1961, citado por Thomas y Stoddart, 1973).

Si una planta se mantiene bajo condiciones desfavorables de floración (por ejemplo, fuera del fotoperíodo) su senescencia puede posponerse por muchos años. En plantas de frijol y tabaco las hojas viejas entran en senescencia al desarrollarse la planta, pero esta senescencia puede revertirse si se corta su parte superior (Bidwell, 1976).

3.8.2 Reversibilidad en hojas separadas de la planta

La rápida senescencia de una hoja cortada puede revertirse y ésta rejuvenecer por aplicación de citoquininas o poniéndola a enraizar (Bidwell, 1976).

Experimentos demuestran que la senescencia es demorada por la formación de raíces en los peciolo de hojas separadas. Chibnall (1939) con considerable precaución sugiere que las raíces funcionan al retardar la senescencia por suministrar alguna hormona que es esencial para mantener la integridad de la hoja. Este concepto es apoyado por observaciones de Richmond y Lang (1957), citado por Beevers (1973), en hojas separadas de Xanthium fue demorado por la aplicación de cinetina. Subsecuentemente se ha demostrado que la cinetina y sustancias relacionadas demoran la senescencia de hojas separadas o de discos de hojas cortadas en una gran variedad de especies (Osborne, 1962; Person et al 1957; Sugiura et al 1962). Se ha demostrado que exudados metanólicos de raíces (Seth y Wareing, 1965, citado por Beevers, 1973) contienen citoquininas y materiales parecidos que demoran la senescencia de hojas separadas. En otras especies el ácido giberélico es un efectivo retardador de senescencia de hojas separadas (Fischer y Osborne, 1965, citados por Beevers, 1966).

Estas observaciones de que la senescencia de hojas separadas puede ser controlado por la aplicación exógena de reguladores de crecimiento indican que la senescencia de hojas en plantas intactas puede ser regulada por el balance de reguladores endógenos de crecimiento. Las hojas de muchos bosques perennes muestran bajos niveles de auxinas endógenas y giberelinas, y altos niveles de inhibidores de crecimiento, bajo días cortos (Phillips y Wareing, 1959, citados por Beevers, 1973).

Algo similar ocurre en condiciones de sequía ya que una disminución en el flujo de materiales de las raíces reduce la disponibilidad de giberelinas (Jones y Philips, 1966), y citoquininas (Itai y Vaadia, 1965, citado por Beevers, 1966) normalmente proporcionada por el exudado de la raíz y causando una disminución de los componentes en la porción aérea. Apoyos adicionales para el papel que desempeñan las fitohormonas endógenas de crecimiento en el control de senescencia, son probados por los datos de Mayak y Halevy (1970), los cuales demuestran una correlación entre la actividad de citoquininas endógenas y la longevidad de rosas cortadas.

3.8.3 Control nutricional de regeneración

El mecanismo de acción de las citoquininas no está totalmente claro, pero existen indicaciones en los experimentos de Mothes. Este encontró que cuando se coloca en una hoja una

CEBADA

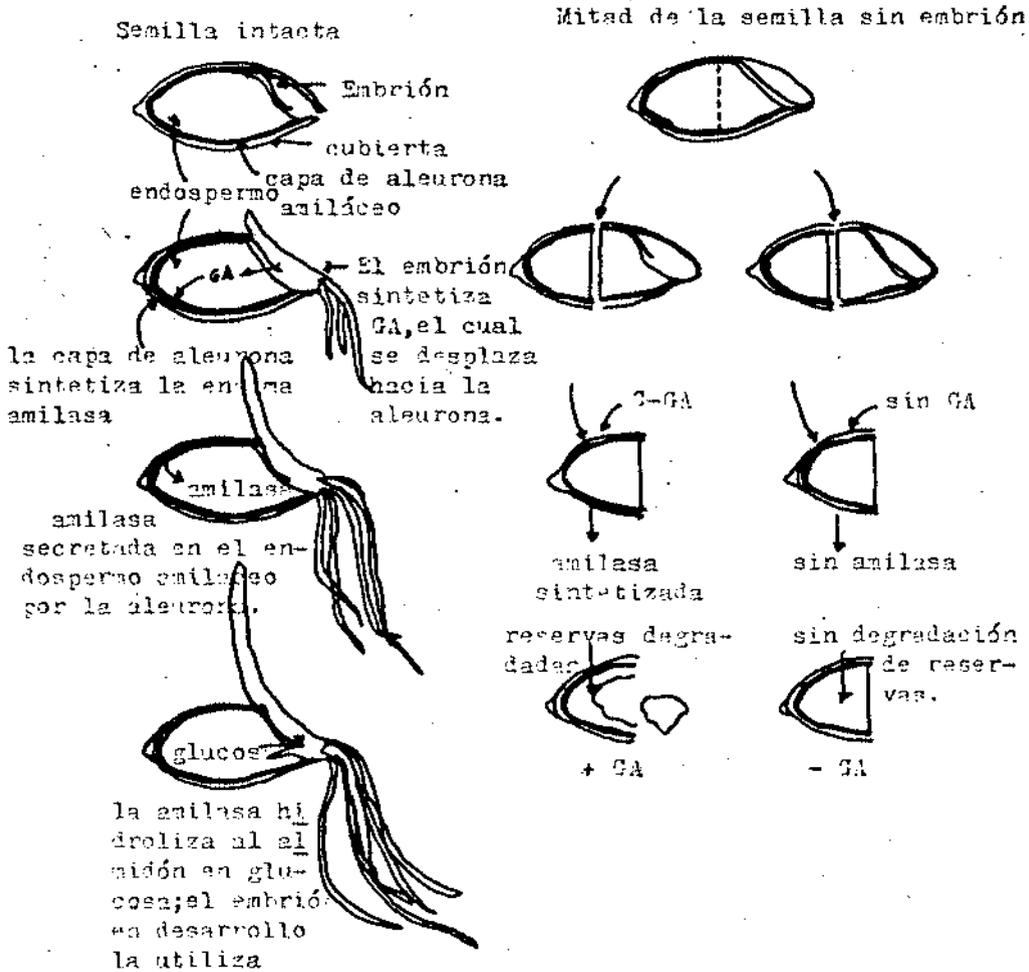


FIGURA 2 Esquema que muestra la forma en que las giberelinas del embrión inducen la síntesis de la enzima α (alfa)-amilasa (en la capa de aleurona que da grado al almidón).

gota de cinetina u otra citocinina, varios nutrientes orgánicos e inorgánicos son movilizados en áreas periféricas de la hoja y van hacia el área tratada con cinetina. No está claro si el incremento de la nutrición es la causa inmediata del envejecimiento o si la citocinina causa la ocurrencia de otros sucesos que dan por resultado tanto el rejuvenecimiento como la movilización de nutrientes (Bidwell, 1976).

Hace tiempo que el fisiólogo británico Chibnall encontró que las hojas cortadas carentes de raíces invariablemente se tornan seniles aunque se cultiven en una solución nutritiva; parecería por lo tanto, que el rejuvenecimiento no es específicamente el resultado de una movilización de los nutrientes inducida por las citoquininas. Sin embargo se sabe que las citoquininas causan la división celular y estimulan muchos procesos metabólicos, incluso la síntesis de proteínas, DNA y RNA. La investigación de J.Cherry sugiere que las citoquininas podrían proteger la síntesis proteica aún en presencia de actividad de la RNasa (ribonucleasa). Este aspecto de la actividad de las citoquininas es por lo tanto el más probable para explicar su efecto rejuvenecedor. A menudo las células con activo metabolismo pueden producir IAA (ácido indolacético), y éste puede ser responsable del transporte direccional de nutrientes (Bidwell, 1976).

La aplicación de la citoquinina benziladenina previene la senescencia en hojas viejas en plantas de frijol (Fletcher, 1969).

Estudios in vitro han demostrado que la degradación y regeneración de cáscara de naranja puede ser regulado nutricionalmente. En abundancia de nitrógeno se promueve la forma o diferenciación de cloroplastos y una abundancia de azúcares estimula la diferenciación de cromoplastos. Observaciones similares se registraron en la corteza de la raíz de Daucus carota y también los sépalos de Muphar luleum (Sibth y Sim, 1974, citados por Huff, 1983), y tejido subepidérmico de pepino.

El reverdecimiento de la cáscara de naranja ocurre cuando este se conserva en luz sobre un medio de agar, conteniendo concentraciones bajas de sacarosa (15 mM): Concentraciones altas de sacarosa inhibieron esta regeneración pero ND-3 y aminoácidos incluidos en el medio vencieron la inhibición por sacarosa. En presencia de nitrógeno, la sacarosa promueve regeneración.

3.8.4 Regulación de la maduración

El etileno promueve la senescencia en una gran diversidad de tejidos y órganos. Tiene un papel fisiológico en los frutos en maduración y en ellos su concentración puede aumentar (Purvis, 1980).

Hay fuertes evidencias que sugieren que el etileno está íntimamente conectado con el envejecimiento; aplicado externamente tiene un fuerte efecto "Fitogerontológico". Los

fisiólogos americanos Harrison y Kende citados por Bidwell (1976) han demostrado que el etileno proviene en gran parte o exclusivamente del aminoácido metionina. La metionina está también involucrada en las reacciones de metilación que guardan una concentración baja en las plantas jóvenes en crecimiento activo. Conforme decrece la actividad el contenido de metionina aumenta mucho y tiene lugar la síntesis de etileno. La inferencia es que éste puede ser parte integral del proceso de envejecimiento pero no la causa.

Debido a que la maduración de frutos inducida por tratamientos con etileno es bioquímicamente similar a la maduración natural, se sugiere que el etileno endógeno que se sintetiza en los frutos es el responsable de activar los procesos bioquímicos que conducen a la maduración. Los niveles endógenos de etileno se incrementan durante la polinización y fecundación de las flores, posteriormente declina y se mantienen en niveles que oscilan entre 0.1 y 1 ppm (parte por millón). Estos niveles son suficientes para estimular la maduración, sin embargo los frutos jóvenes no responden a estos niveles endógenos de etileno, porque sus tejidos no han alcanzado la sensibilidad fisiológica para ser estimulados por esta hormona. Conforme los frutos se desarrollan aumenta la sensibilidad y disminuyen su resistencia al efecto del etileno para que éste estimule los cambios bioquímicos que inician la maduración (Kramer y Koclovaxi, 1979, citados por Delgado, 1985).

Estudios realizados con una gran variedad de frutos, incluyendo plátano, peras y uvas, muestran que pretratamientos con auxinas retardan la maduración inducida con etileno. La auxina exógena parece ser un factor que incrementa la resistencia a la maduración. Sin embargo, bajo ciertas condiciones la aplicación de auxinas induce la maduración, ya que es importante reconocer que dosis altas de auxinas estimulan la síntesis de etileno (Yu et al, 1979, citado por Delgado, 1985).

3.8.5 Importancia de la senescencia

La senescencia es a menudo una gran ventaja para las plantas que entrarían en serias dificultades si no ocurriese. La caída de las hojas en los árboles deciduos es una parte esencial en la adaptación al invierno. A menudo las hojas más viejas de las plantas herbáceas envejecen y mueren, y su contenido de nutrimentos es transportado para la nutrición de las partes en crecimiento. La senescencia y muerte son esenciales para el funcionamiento de las células del xilema y del esclerenquima. Estas funciones son tan importantes que es improbable que ocurran al azar (Bidwell, 1976).

3.9 Composición química del cladodio de (Opuntia ficus-indica, Mill).

Las cactáceas al igual que todas las plantas superiores, presentan un complicado proceso metabólico que da origen a la formación de muy diversos componentes orgánicos (Bravo, 1978).

Análisis bromatológico

Los diversos análisis efectuados en el nopal, indican que la composición química de la penca es casi la misma para un número de variedades conocidas. En el cuadro No.1 se presentan los que corresponden a las pencas frescas o recién cortadas. Como se observa, no es un alimento muy nutritivo pero su falta de materiales alimenticios queda compensada por la succulencia ya que lo hace ser tan ventajoso como forraje de invierno en los climas cálidos y extremos (Áridos) (Borrego y Burgos, 1986).

Cuadro No.1 Análisis químico en cladodios de Nopal (% en base húmeda).

COMPONENTES	CHAPINGO MEX.	DEPTO. DE AGRIC. DE U.S.A.
Agua	92 %	91 %
Proteína cruda	0.55	0.66
Carbohidratos	6.50	5.50
Celulosa	0.16	1.15

Contenido de Agua

El papel del agua, en la composición química de los organismos vivos, es evidente e importante, pues forma parte de una gran cantidad de compuestos del metabolismo orgánico. En cactáceas tales como el nopal, alcanza valores mayores de 90% en tallos, pencas y frutos; éste es el componente que da a los nopales y a otras plantas el aspecto de succulencia (COBAGEM, 1979).

Sales minerales

La composición de las cactáceas es muy variable, no tan sólo entre las distintas especies, sino también dentro de una misma, ya que depende, en parte, de la composición química del suelo y de los complicados fenómenos de la disponibilidad de ellos para la planta, relacionados con la acidez, alcalinidad, salinidad, conductividad, humedad y textura de los suelos (Bravo, 1978).

Fernández (1949), citado por Borrego y Burgos (1986), reporta el contenido mineral en las pencas de nopal en el valle de México en el cuadro No.2.

Cuadro No.2 **Análisis de las cenizas en muestras de (Opuntia ficus-indica, Mill)**

MINERAL	CONTENIDO
SiO ₂	116.2
CaO	42.55
MgO	11.04
MnO	0.12
MgO	6.05
N ₂ O	1.28
CO ₂	39.08
SO ₄	2.95
Cl	2.84
P ₂ O ₅	1.26

Proteínas

Falomo (1963), citado por Borrego y Burgos (1986), realizó un estudio sobre las especies forrajeras de Nuevo León y encontró que el contenido proteínico varió desde 2.81 hasta 7.92, en base a materia seca, siendo superior el contenido de Opuntia megacantha y presenta el porcentaje mas bajo en Opuntia castreña

Carbohidratos.

Villareal et al (1964) hicieron un estudio químico en algunas especies de nopal, donde se señala la diferencia entre ellos en cuanto al contenido de sólidos totales, sólidos solubles, y cenizas, así como también su contenido de pectina y celulosa; se encontró que el nopal "apastillado" Opuntia ficus-indica presentó el más alto contenido de celulosa: 81.88% en base seca.

Cuadro No.3 Contenido de Celulosa en Pencas de diferentes especies de Nopal.

VARIEDAD	N.CIENTIFICO	% BASE HUMEDA	% BASE SECA
Apastillada	<u>O.ficus-indica</u>	11.88	81.88
Verde	<u>O.ficus-indica</u>	5.20	39.64
Amarilla	<u>O. megacantha</u>	8.54	50.10
Camuesa	<u>O. robusta</u>	5.72	46.93

Vitaminas

Fernández citado por Borrego y Burgos (1986) reporta en el cuadro No.5 el contenido vitamínico en tallos tiernos de Opuntia hyptiacantha expresados en miligramos por 100g de muestra fresca.

Ramírez reporta el análisis químico de 100g de nopalitos y manifiesta que poseen un sabor agradable, ligeramente ácido, pH de 4.78 a 5.10 según la variedad y grado de madurez. Cuadro No.6

Sotelo et al citados en CODAGEM (1979) determinan el contenido de vitamina C en plantas mexicanas comestibles.

Cuadro No.4 Porcentaje en peso fresco de carbohidratos en especies de Nopal.

MUESTRA	CARBOHIDRATOS	% PESO FRESCO
<u>O.tomentosa</u>	Azúcares totales	8.98
	Polisacáridos totales	8.49
	Hexosas totales	3.78
	Hexosas monosacáridos	0.26
	Pentosas totales	0.20
	Monosacáridos totales	5.12
	Pentosas	1.70

Cuadro No.5 Contenido de vitaminas en tallos de Opuntia hyptiacantha.

VITAMINA	CONTENIDO
Acido ascórbico	4.00 mg
Caroteno	5.00 mg
Tiamina	0.04 mg
Riboflavina	0.04 mg
Niacina	0.03 mg

Cuadro No.6 Composición química de 100g de Nopalitos

COMPONENTES	CANTIDAD
Glúcidos	2.86 g
Prótidos	1.45 g
Lípidos	0.21 g
Calorías	19.95 unidades
Vitamina A	0.41 mg

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Material vegetal y procedencia

El material vegetal empleado para evaluar el proceso de senescencia consistió en pencas jóvenes de Nopal (Opuntia ficus-indica, Mill), colectadas en una nopalera en producción localizada en San Martín de las Flores bajo, Mpio., de San Pedro Tlaquepaque, Jal.

El clima de éste municipio es semi-seco con invierno y primavera secos, según clasificaciones del profesor W.C. Thornthwaite; el suelo que caracteriza a éste lugar es del tipo Fraire arenoso y la vegetación que da fisonomía a la región es Natural subtropical (Instituto de Geografía y Estadística de la Universidad de Guadalajara, 1977).

Un mes antes de seleccionar a las pencas jóvenes se escogieron plantas vigorosas, considerando el tamaño, sanidad y producción de las mismas. De estas plantas se escogieron brotes de 1 cm. aproximado de tamaño, que estuvieran sanos. De los brotes anteriores se marcaron 120 con una señal de lápiz grueso en la porción inferior que los une a la planta madre. Después de 23 días aproximadamente se procedió a colectar pencas jóvenes provenientes de los brotes marcados anteriormente y considerando la mayor semejanza entre ellas, de tamaño, longitud y grosor auxiliándose de un vernier marca scala. Se utilizaron guantes gruesos para poder tomar las pencas sin dañarlas y se cortaron con navaja afilada en la parte más cercana a la base que la unía a la peca madre; también se consideró la presencia de hojas y la sanidad de los cladodios. Luego de cortarlas se pesaron en una báscula marca Metler PE-22 con el fin de separar el material de peso homogéneo.

Una vez obtenidas las 100 pencas se llevaron al laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara y se colocaron 50 cladodios en condiciones de luz (25°-30°C) sobre la mesa del laboratorio; las otras 50 pencas se colocaron en gavetas (previamente desinfectadas con cloro (4%) para exponerlas a condiciones de obscuridad.

A partir del día de cosecha y con intervalos de 4 días se seleccionaron al azar 5 pencas de cada tratamiento para realizar

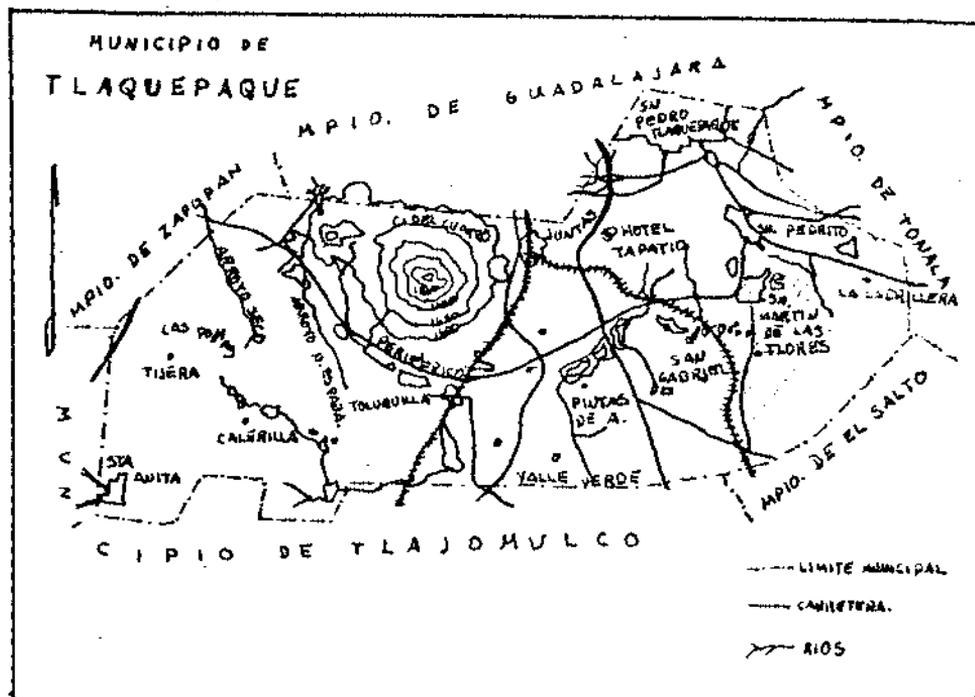


FIGURA 3 Municipio de Tlaquepaque. Instituto de Geografía y Estadística de la U. de J.

las determinaciones químicas que se mencionan en los siguientes apartados.

Este experimento se repitió en cuatro fechas, cada una fue considerada como una repetición experimental. En el siguiente cuadro se describen las repeticiones, fechas de inicio del experimento y la duración en días de los mismos.

Cuadro No.7 Fechas en que se realizaron las evaluaciones químicas y morfológicas en pencas jóvenes de Nopal.

REPETICION	FECHA	DURACION
I	Abril	18 días
II	Mayo	28 días
III	Jun-Jul	28 días
IV	Jul-Ago	20 días

4.2 Evaluación de Componentes de la Penca Joven

4.2.1 Componentes químicos del cladodio

En cada uno de los tratamientos se tomaron al azar 5 cladodios jóvenes en estados similares de desarrollo. Este material se colectó desde el momento de la cosecha y después cada 4 días hasta el momento que estos presentaron síntomas avanzados de senescencia. Estos cladodios se lavaron con agua destilada. Los cladodios se cortaron en trozos antes de homogeneizarlos en una licuadora "Osterizer". Las muestras homogeneizadas se colocaron en frascos de cristal que fueron cubiertos con papel de aluminio. Estas fueron almacenadas en un refrigerador doméstico, antes de llevar a cabo las determinaciones químicas. Una excepción a esto fueron las determinaciones de clorofila que se realizaban poco tiempo después de homogeneizar el tejido.

En el tejido homogeneizado se realizaron los análisis químicos que se describen a continuación:

A. Concentración de clorofila total y de clorofila a y b

Antes de iniciar la determinación química de éste componente se tuvo precaución de disminuir la intensidad lumínica, apagando lámparas y trabajando durante las primeras horas del día (7:00 - 10:00 am) con el fin de reducir errores, debido al efecto por luz y temperatura.

Se utilizó el método de análisis de clorofila descrito en las notas del curso de Fisiología Vegetal del Dr. Castelfranco (1978) de la Universidad de California, Davis, que es una

adaptación del método descrito por Arnon (1949). Este procedimiento se describe a continuación:

Se pesaron 2g de tejido homogeneizado, a los que se adicionaron 8 ml de acetona (80% fría). Este fue centrifugado a -4°C y 10,000 rpm por 10 minutos en una centrifuga marca "Backman modelo J2-21". De esta primera centrifugación se separó el sobrenadante el cual se colocó en tubos de ensaye cubiertos con papel aluminio dentro de recipientes con hielo para mantener baja la temperatura. El precipitado se resuspendió en 8 ml de acetona (80% fría). Con esta se realizó una segunda centrifugación siguiendo las indicaciones anteriores. Se obtuvo un segundo sobrenadante que fue combinado con el primero.

De esta combinación de extractos se colocó una alícuota de 3ml para registrar la absorbancia a 663 y 645 nanómetros con un espectrofotómetro marca "Perkin-Elmer junior modelo 35". También se registró el volumen final, para poder estimar la concentración total de clorofila en la muestra.

Con las lecturas de absorbancia, en ambas longitudes de onda se estimó la concentración total de clorofila, y la de la clorofila a y b utilizando las siguientes fórmulas:

CONCENTRACION DE CLOROFILA (M_3/ml) =

8.2 A 663 + 20.2 A 645

CONCENTRACION DE CLOROFILA TOTAL (M_3/g) =

(M_3/ml) (vf) (F.D.)

vf - volumen final

F.D. - factor de dilución

CONCENTRACION DE CLOROFILA A = 12.7 A663 - 2.59 A645.

CONCENTRACION DE CLOROFILA B = 22.9 A645 - 4.68 A663.

B. Proteínas

Para la extracción de proteína se utilizó el método descrito por Choe y Thimann (1975) con algunas modificaciones. El procedimiento se describe a continuación:

El precipitado que se obtiene de las dos centrifugaciones para la extracción de clorofila es utilizado en la extracción de proteínas. A éste se le agregan 8ml de Acido tricloroacético (10%), dejándolo reposar durante 1 hora en un refrigerador doméstico. Enseguida se vuelve a centrifugar a 10°C y 10,000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante obtenido se elimina y al precipitado se le agregan 3.2ml de Hidróxido de Sodio 1N, luego se coloca en el baño María a una temperatura de 80°C durante 20 minutos.

Las muestras pueden guardarse en congelación si no se piensa trabajar inmediatamente en su determinación.

Finalmente la proteína se determina utilizando el método de Lowry (1951) y las cantidades de ésta con ayuda de una curva de calibración.

C. pH

Las determinaciones de pH se realizaron de la siguiente manera:

Se pesaron 5g de tejido homogeneizado por cada tratamiento, a los cuales se agregaron 40ml de agua destilada, se combinó con ésta y se coló. El extracto obtenido se colocó en un potenciómetro digital marca "Conductronic pH20" y se obtuvieron las lecturas.

Esta determinación al igual que la de acidez titulable se realizaron temprano durante el día (8:00 am), considerando que en las cactáceas el contenido de ácido málico se va incrementando conforme transcurre el día y consecuentemente el pH y la acidez titulable.

D. Acidez titulable

El mismo extracto que se utilizó para determinar el pH, se empleó para determinar la acidez titulable, agregando Hidróxido de Sodio 0.1N, hasta alcanzar un pH de 7.2 y usando un potenciómetro digital marca "Conductronic pH 20". El porcentaje de ácido málico se estimó como se indica en la siguiente fórmula:

$$\% \text{Acido málico} = \frac{(\text{ml de Hidróxido de Sodio})(N \text{ de NaOH})(6.4)}{5 \text{ g de muestra}}$$

E. Azúcares

Se utilizó el método colorimétrico de Somogyi (1952) con algunas modificaciones, el cual se describe a continuación:

Por tratamiento se pesó 1g de tejido homogeneizado al cual se agregaron 3 ml de alcohol etanol(80%), se calentó dentro de un baño María durante 5 minutos a 80°C, luego se centrifugó 5 minutos a 15°C y 10,000 rpm. El sobrenadante se colectó en una probeta y al precipitado se le volvió a agregar alcohol, se calentó y centrifugó como se describió anteriormente; el segundo sobrenadante se mezcló con el primero y el precipitado obtenido se desechó. A los sobrenadantes combinados se les centrifugó durante 20 minutos a 15°C y 10,000 rpm. El sobrenadante obtenido de esta tercera centrifugación se colocó en una probeta y con alcohol etanol (80%) se llevó a un volumen de 25ml. De éste volumen final se tomaron muestras para la determinación de azúcares totales y azúcares reductores.

Determinación de Azúcares:

Azúcares Totales.- Por cada tratamiento se colocaron 0.5ml de muestra extraída previamente en un tubo de ensayo, se agregaron 2ml de Antrona, y se agitaron en vortex. Posteriormente se colocaron los tubos en baño María a 80°C durante 8 minutos, para finalmente realizar una lectura en espectrofotómetro a 620

nanómetros, utilizando como blanco agua destilada con el mismo procedimiento que las muestras.

Para los cálculos también se realizó una curva de calibración obteniendo una fórmula y relacionando el resultado con la alícuota y el volumen final.

Azúcares Reductores.- En tubos de ensayo se colocó una alícuota de 0.5ml a los que se agregó 1ml de reactivo de cobre compuesto por Tartrato de sodio-potasio, Carbonato de sodio, Bicarbonato de sodio y Sulfato de Cobre en distintas proporciones. Posteriormente se colocó en un baño María a 80°C por 10 minutos. Después los tubos se dejaron enfriar por 2 minutos; para agregar 1ml por tubo de reactivo de Nelson que se prepara con 2 días de anticipación, el cual contiene Molibdato de amonio disuelto en agua y Acido sulfúrico, mezclado con Arseniato de sodio.

Después de agregar el reactivo de Nelson, se dejó reposar durante 30 minutos en un lugar con poca luz y de preferencia oscuro para evitar el efecto de la iluminación en los reactivos agregados a las muestras de azúcares. Durante el lapso de reposo se realizaron 2 agitaciones, para finalmente leer en el espectrofotómetro a 565 nanómetros.

Se hizo una curva de calibración con glucosa y se obtuvo una ecuación para conocer la concentración de azúcares reductores en $\mu\text{g/ml}$; luego se relacionó con la alícuota tomada y el volumen final para obtener Mg .

4.2.1 Componentes morfológicos del cladodio

Observación de estomas

Se hicieron cortes de tejido epidérmico en los cladodios jóvenes de nopal en condiciones de luz y oscuridad de 1cm x 1cm (por lado) al cual se desprendió la cutícula, a ésta película se le tiñó con azul de toluidina; posteriormente las muestras se colocaron en portaobjetos y se observaron los estomas en microscopio electrónico.

4.3 Análisis Estadístico

Se realizó análisis de correlación y regresión entre las variables morfológicas, químicas y tiempo de las pencas jóvenes de Nopal sometidas a los tratamientos de luz y oscuridad.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Desarrollo de Síntomas

Se encontró que los cladodios jóvenes en que se evaluó senescencia en las dos primeras fechas (dos primeras repeticiones) presentaron más rápido síntomas visibles de senescencia que en las dos últimas fechas. Esta tendencia se presentó tanto en condiciones de luz como en oscuridad.

En la primera y segunda repetición la mayoría de las pencas jóvenes manifestaron avanzados síntomas de senescencia a los 18 días de haberse cortado y sometido a los tratamientos de luz y oscuridad. En la tercera repetición la senescencia se manifestó con mayor intensidad en pencas jóvenes de 28 días que se sometieron también a ambos tratamientos. En la cuarta repetición hubo pencas que luego de 30 días de haberse cortado y sometido al tratamiento de luz no presentaron síntomas de senescencia; en el tratamiento de oscuridad, las pencas jóvenes sí manifestaron síntomas senescentes durante este tiempo.

En condiciones de oscuridad se presentaron mas temprano síntomas de senescencia que en condiciones de luz. En las repeticiones 1 y 2 las pencas jóvenes sometidas a oscuridad manifestaron senescencia severa a los 12 días después de la fecha de corte. En las repeticiones 3 y 4 las pencas presentaron síntomas avanzados de senescencia a los 20 días.

Condiciones de luz.-

Las manifestaciones visuales de senescencia se presentaron gradualmente; en el caso de las dos primeras repeticiones se empezaron a manifestar a partir de los primeros 4 días. Los primeros síntomas se caracterizaron por presentar disminución de la intensidad del color verde en aproximadamente el 5% del tejido localizado en la porción cercana al ápice de los cladodios jóvenes.

De 10 a 18 días la porción apical en la que se empezaron manifestar los primeros síntomas de clorosis, empiezan a mostrarse necróticos en el ápice. Sin embargo es importante mencionar que la mayor parte de las pencas colectadas (90%)

manifestaron severos síntomas de senescencia a los 18 días de someterse al tratamiento de luz.

En el caso de las tercer y cuarta repetición, como se mencionó previamente los cladodios jóvenes presentaron mas tarde los síntomas característicos de senescencia. Los síntomas iniciales se presentaron entre los 5 y 8 días después del comienzo del experimento, con una disminución del color cercano al ápice de la penca. Entre 11 y 20 días el tejido de la porción apical se torna necrótico.

Condiciones de Oscuridad.-

Las manifestaciones visuales de senescencia se presentaron gradualmente, se empezaron a manifestar a partir de los primeros 3 días en el caso de las dos primeras repeticiones. Los primeros síntomas se caracterizaron por presentar disminución de la intensidad de color verde en aproximadamente el 15% del tejido, localizándose en el área cercana al ápice de los cladodios jóvenes. De los 5 a 8 días la porción apical en la que empiezan a manifestarse los primeros síntomas de clorosis, muestran amarillamiento y de los 10 a 14 días ésta área localizada en el ápice de la penca joven se torna necrótico.

En el caso de la tercera y repetición, como se mencionó previamente los cladodios jóvenes presentaron más tarde los síntomas característicos de senescencia. Los síntomas iniciales se presentaron entre los 4 y 6 días después del comienzo del experimento, con una disminución del color cercano al ápice de la penca. Entre 6 y 9 días el tejido de la porción apical se tornó amarillo y entre los 10 y 20 días fue sustituido por tejido necrótico.

En las cuatro repeticiones la manifestación de síntomas degradativos fue mas intensa en pencas sometidas a oscuridad.

En las 2 primeras repeticiones, las condiciones ambientales que prevalecieron tomando en consideración el registro de las temperaturas fue de 27.5°C en condiciones de luz y de 26.0°C en condiciones de oscuridad.

Durante el tiempo que se evaluaron las repeticiones 3 y 4 las temperaturas registradas fueron las siguientes: 25°C en condiciones de laboratorio (luz difusa) y 24°C en condiciones de oscuridad.

Se ha reportado que la manifestación de síntomas senescentes en hojas separadas son influenciados por temperatura y la humedad ambiental. Según Mothes et al (1964), la exposición de hojas de Nicotiana a temperaturas del orden de 50°C por únicamente unos minutos produce un acelerado amarillamiento y degradación de proteínas. En Vigna una exposición de 16 hrs. a alta temperatura (45°C) afecta el desarrollo de cloroplastos (Feierabend y Mikus, 1977).

Las plantas de Panicum manifestaron un envejecimiento acelerado cuando el contenido de agua en el suelo fluctúa entre 25% y 55% (Hsiao, 1973).

El efecto de la temperatura y humedad que durante las repeticiones se obtuvieron influyeron en la acelerada senescencia durante las 2 primeras fechas de evaluación realizadas en los meses de Abril y Mayo de 1990. En la tercera y cuarta repetición las condiciones de temperatura y humedad favorecieron un retardo en la manifestación de síntomas senescentes en las pencas jóvenes.

5.2 Evaluación de componentes químicos.

5.2.1 Contenido de Clorofila Total

La evaluación de la variación en el contenido de clorofila total a diferentes intervalos de tiempo después de iniciada la observación (4,8,12 y 16 días en promedio de las cuatro repeticiones) reveló que durante los primeros 8 días se presentó una disminución gradual del contenido de clorofila. Esta reducción fue más dinámica en el tratamiento de oscuridad que en el de luz, sin embargo a los 8 días en ambos casos se encontró un porcentaje similar de degradación (80%). Después de esta fecha se observó un incremento de el contenido de clorofila siendo este mayor en el tratamiento de luz (90%) que en el de oscuridad (70%). Aunque estos incrementos fueron seguidos por una reducción fuerte de clorofila en el tratamiento de oscuridad, en contraste con el de luz que continuó manifestando un incremento que alcanzó su punto máximo a los 15 días, disminuyendo posteriormente aunque en porcentajes relativamente bajos. El contenido de clorofila total puede observarse en la figura No.4.

5.2.2 Contenido de Clorofila a .

Los valores obtenidos en el contenido de clorofila a en promedio durante las evaluaciones a intervalos de tiempo de 4,8,12 y 16 días manifestó durante los primeros 8 días una reducción gradual. Esta disminución fue más dinámica en el tratamiento de oscuridad que en el de luz; a pesar de esto a los 8 días en los dos tratamientos se obtuvo un porcentaje similar de degradación (50%). Después de esta fecha se observó un incremento en el contenido de clorofila a siendo mayor (90%) en el tratamiento de luz que en el de oscuridad (45%). Los incrementos anteriores fueron seguidos por una fuerte reducción en el tratamiento de oscuridad, en comparación con el de luz que siguió manifestando un incremento del 90% luego de 16 días, disminuyendo enseguida proporciones relativamente bajas (Fig. No.5).

CONTENIDO PROMEDIO DE CLOROFILA

Clorofila Total en Luz y Oscuridad

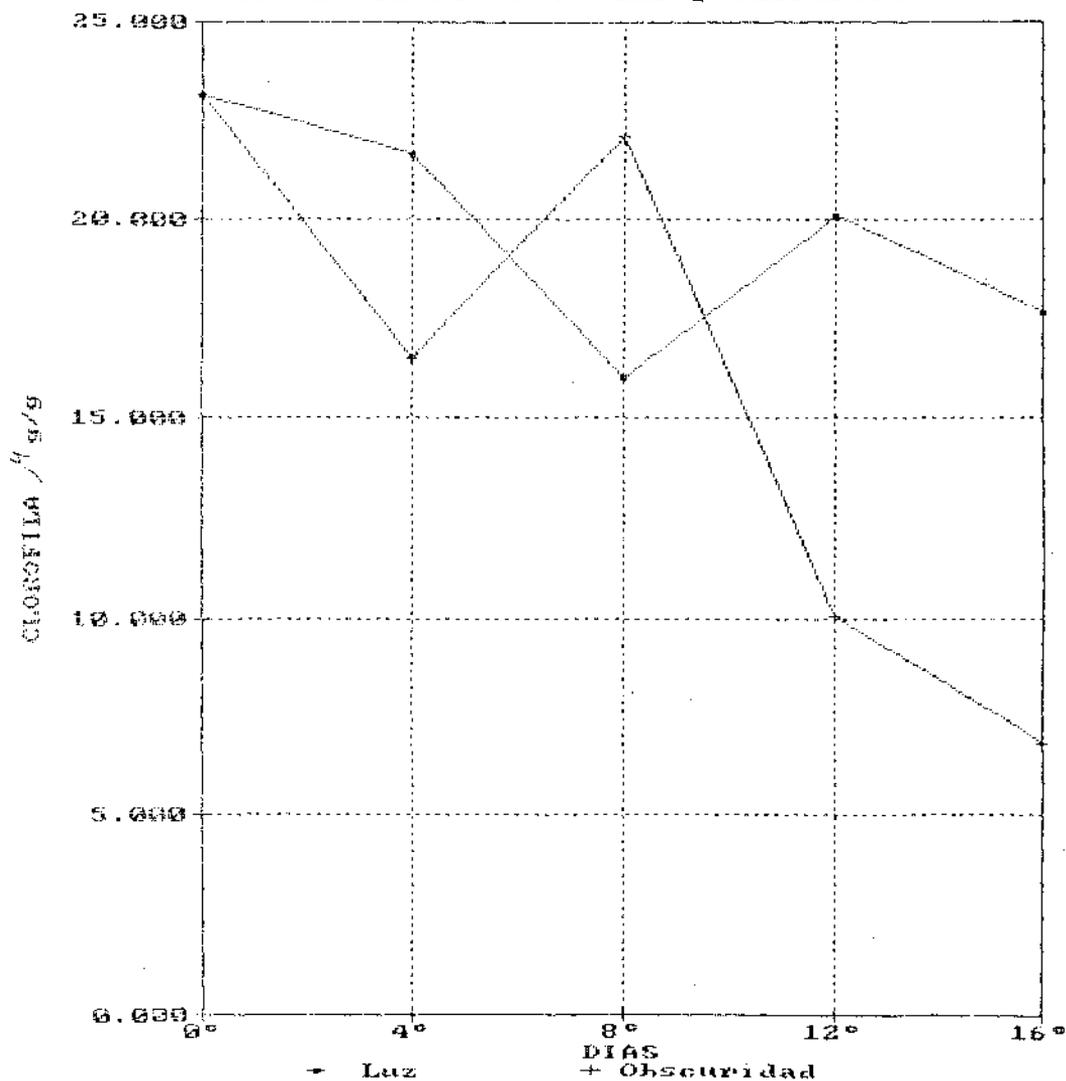
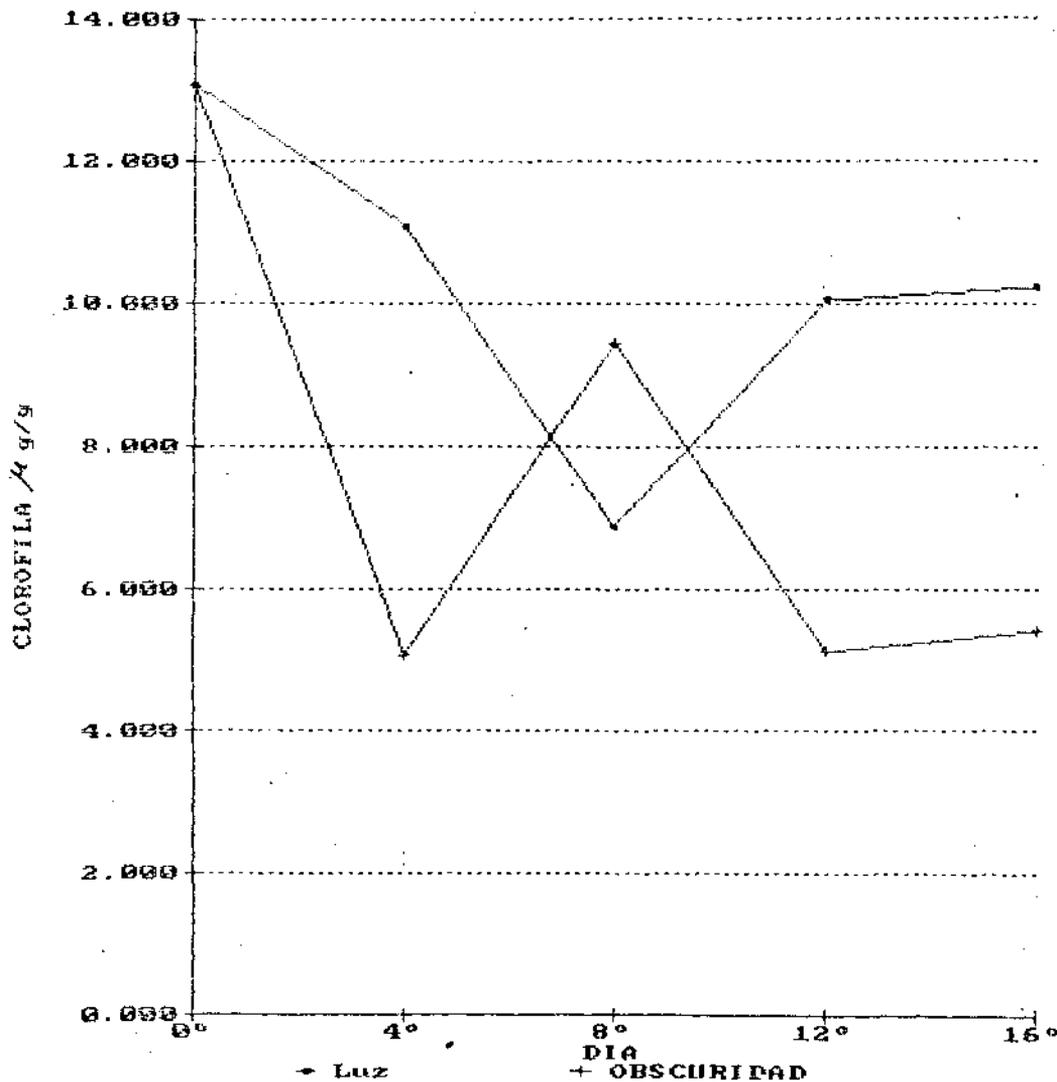


Fig. 4
Contenido promedio de clorofila total bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.

CONTENIDO PROMEDIO DE CLOROFILA

Clorofila A en Luz Y Oscuridad



Contenido promedio de clorofila a bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.

5.2.3 Contenido de clorofila b

Las variaciones obtenidas en el contenido de clorofila b en promedio durante las evaluaciones a intervalos de 4,8,12 y 16 días, manifestó una disminución gradual durante los primeros 8 días de senescencia. Esta reducción fue más dinámica en el tratamiento de obscuridad que en el de luz; aunque a los 8 días en ambos casos se obtuvo un porcentaje similar de degradación (80%). Luego de esta fecha se observó un incremento en el contenido de clorofila b, siendo mayor en el tratamiento de luz (superior al 100%) que en el de obscuridad (70%). Aunque estos incrementos fueron seguidos por una reducción fuerte inmediata en el tratamiento de obscuridad, en contraste con el de luz que siguió manifestando un incremento que alcanzó su punto máximo a los 12 días, disminuyendo en proporción relativamente baja (Fig. No.6).

5.2.4 Contenido de Azúcares Totales

El contenido de Azúcares Totales que se reporta corresponde a un promedio de las cuatro repeticiones y de las evaluaciones que se realizaron a diferentes intervalos de tiempo después de que empezó el experimento (4,8,12 y 16 días). Inicialmente se observó una disminución en el contenido de azúcares totales durante los primeros 8 días en ambos casos se encontró un porcentaje similar de degradación (10%). Luego de estas fechas se observó un incremento en el contenido de azúcares totales siendo este mayor (superior al 100%) en el tratamiento de obscuridad que en el de luz (80%). Estos incrementos fueron seguidos por una reducción fuerte e inmediata en el tratamiento de obscuridad, en contraste con el de luz que continuó manifestando incrementos que alcanzaron su punto máximo a los 16 días disminuyendo en porcentajes relativamente bajos posteriormente (Fig. No.8).

5.2.5 Contenido de Azúcares Reductores.

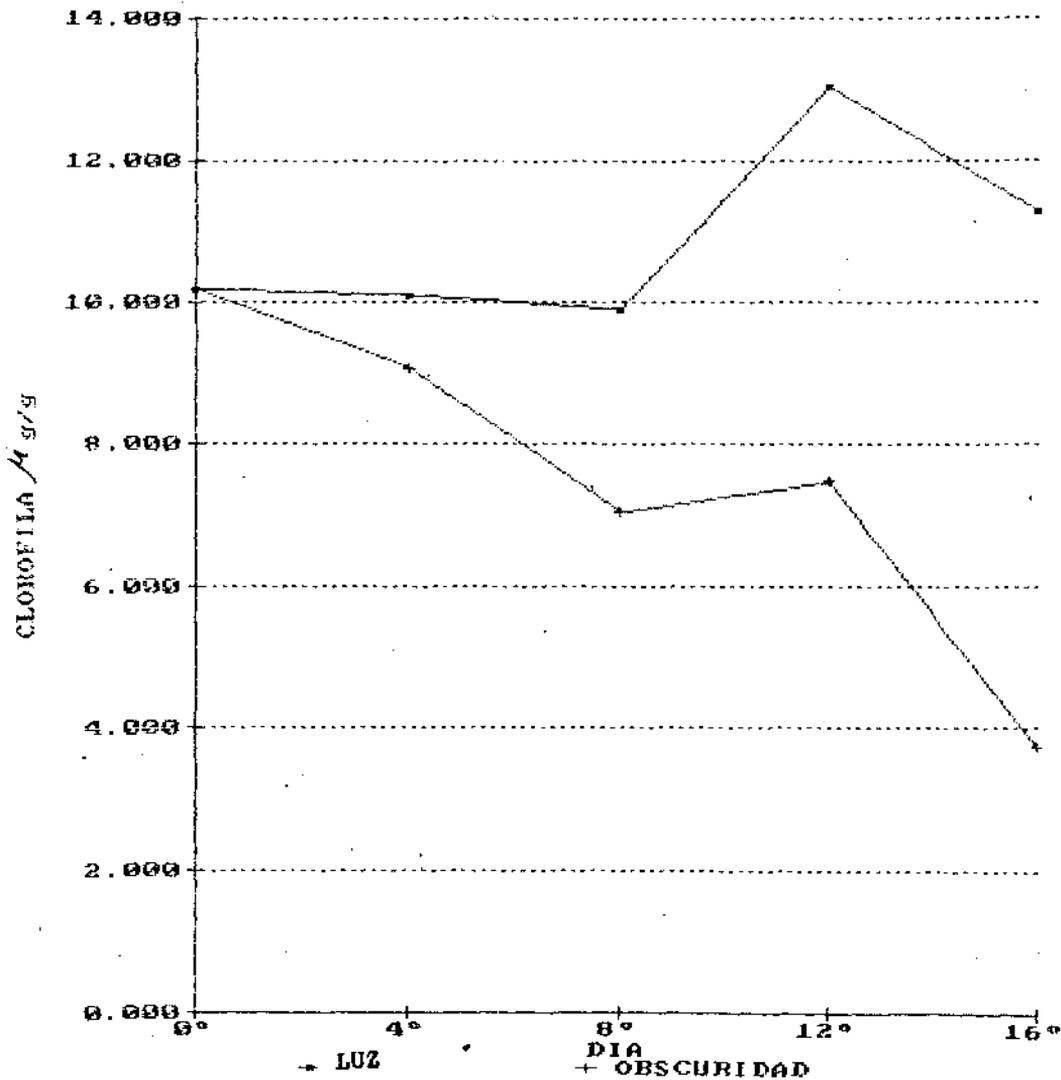
Los azúcares reductores manifestaron variaciones en su contenido durante las evaluaciones realizadas a diferentes intervalos de tiempo (4,8,12, y 16 días de senescencia). En promedio durante los primeros 8 días se observó una disminución gradual. Esta reducción fue más dinámica en el tratamiento de luz que en el de obscuridad; sin embargo a los 10 días en ambos casos se observó un porcentaje similar de degradación (50%). Luego de esta fecha se observó un incremento en el contenido de azúcares reductores del (10%) en el tratamiento de obscuridad y en el de luz hubo incremento de 2%. Posteriormente se manifestó una disminución gradual en ambos tratamientos, pero fué intensa en el tratamiento de luz (Fig. No.9).

5.2.6 Contenido de Proteína.

El contenido de proteínas que en promedio durante las evaluaciones a diferentes intervalos de tiempo (4,8,12 y 16 días de senescencia), manifestó una estabilidad durante los primeros

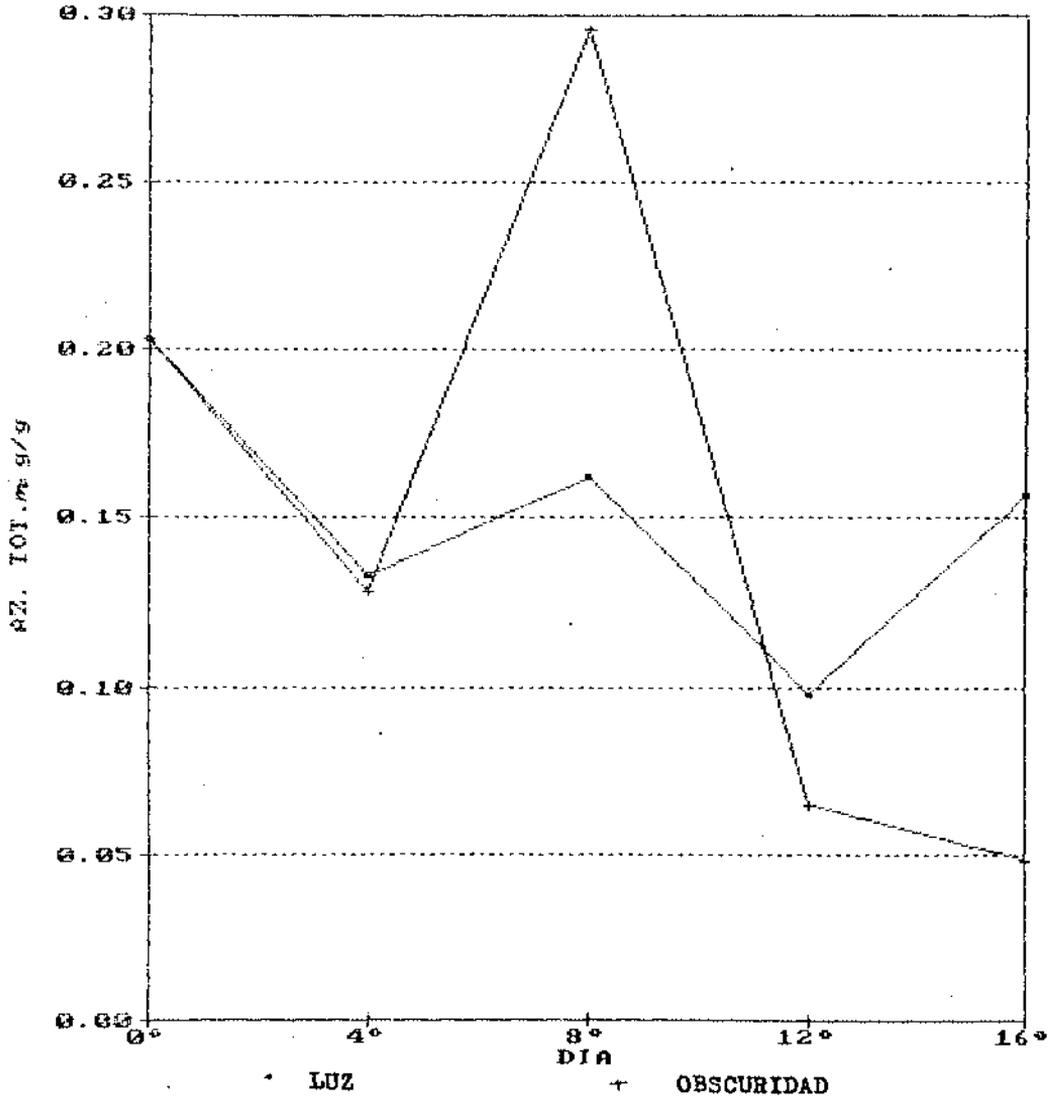
CONTENIDO PROMEDIO DE CLOROFILA

Clorofila B en Luz y Obscuridad



6 Contenido promedio de clorofila b bajo condiciones de luz y obscuridad durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal.

Azúcares Totales Contenido Promedio



Contenido promedio de azúcares totales en pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y obscuridad durante senescencia.

AZUCARES REDUCTORES

Contenido promedio

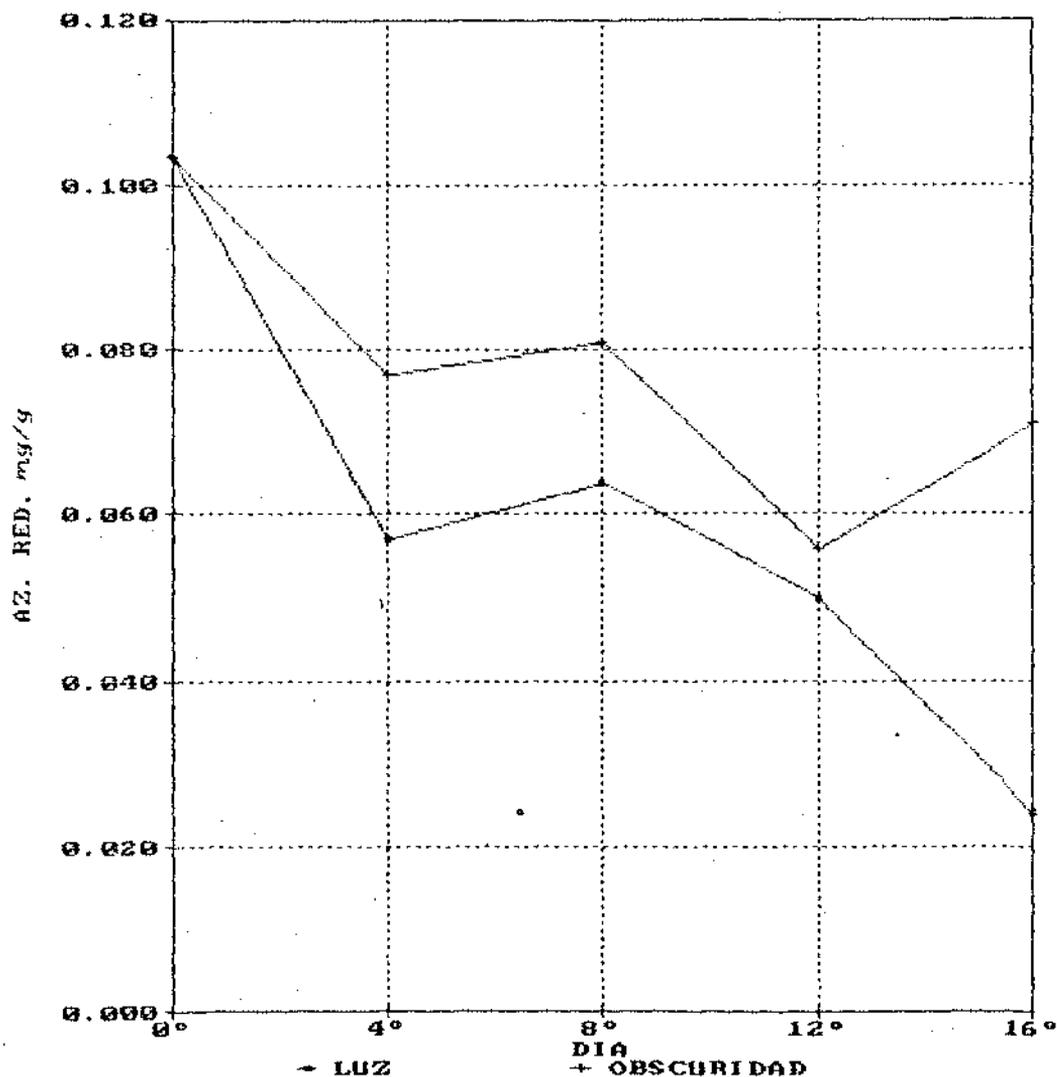
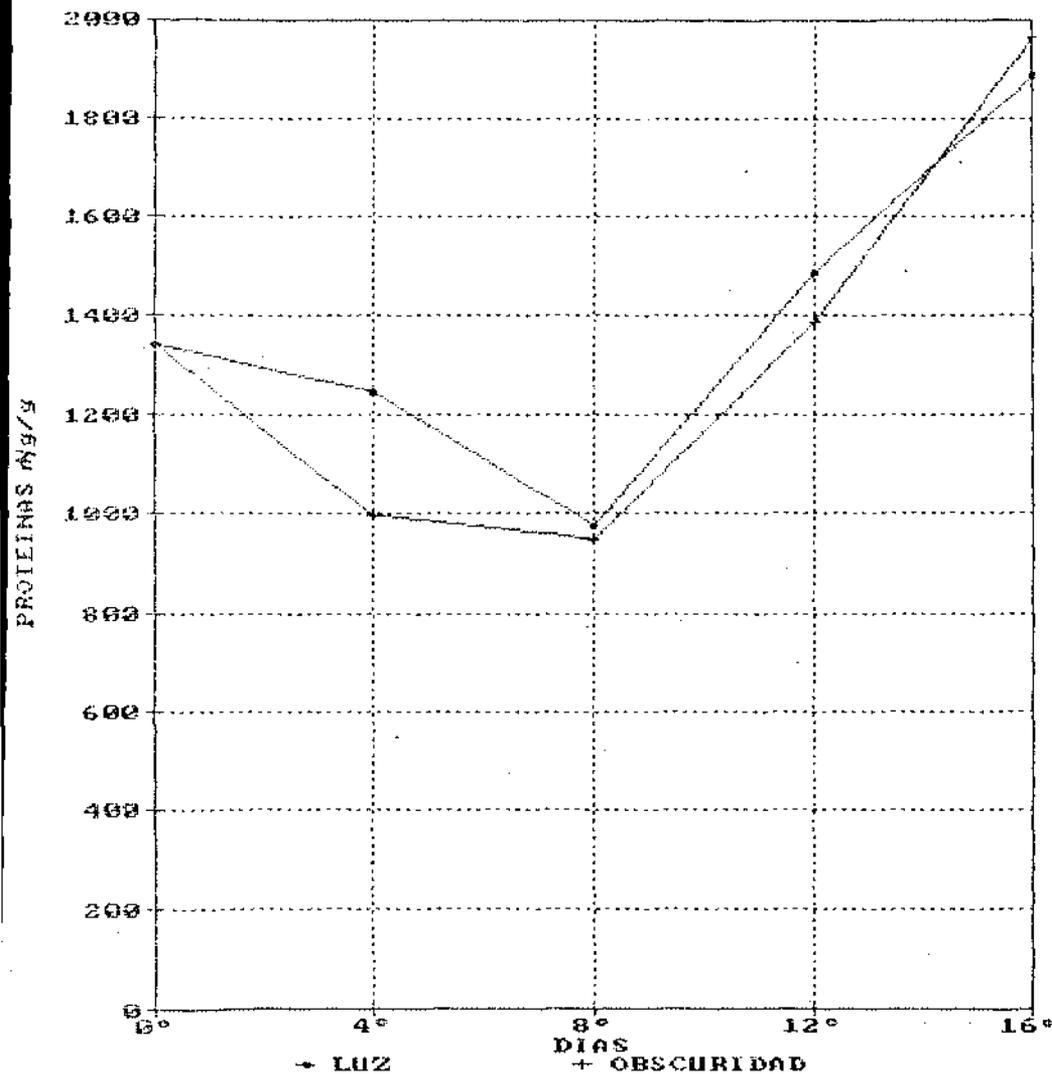


Fig. 9
Contenido promedio de azúcares reductores en pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y obscuridad durante senescencia.

PROTEINAS

Contenido Promedio



7 Contenido promedio de proteínas bajo condiciones de luz y oscuridad durante la senescencia de pupas jóvenes de Nepal.

días de senescencia en pencas jóvenes; esta fue mayor en el tratamiento de oscuridad que en el de luz; sin embargo a los 8 días en ambos casos se observó un porcentaje similar en contenido (30%). Luego de esta fecha se observó un incremento en el contenido de proteína siendo mayor (superior al 100% en ambos tratamientos. Estos incrementos continuaron en ambos tratamientos hasta los 16 días y posteriormente fueron seguidos por otro periodo de estabilidad, tanto en el tratamiento de luz como en el de oscuridad (Fig.No.7).

5.2.7 Valores de pH.

La evaluación de la variación en el contenido de acidez y alcalinidad en pencas jóvenes a diferentes intervalos de tiempo (cada 4 días durante 16 días de senescencia) manifestó en promedio un incremento de luz (aumentando de 4.8 a 5.2 en unidades de pH), que en el de oscuridad (aumentando de 4.8 a 4.9 unidades de pH)(Fig. No.10).

5.2.8 Valores de Acidez titulable.

El porcentaje promedio de ácido málico obtenido en las evaluaciones a intervalos de tiempo de 4, 8, 12 y 16 días de senescencia en pencas jóvenes reveló una disminución gradual en el contenido durante los días de evaluación. Esta reducción fue mayor en el tratamiento de oscuridad que en el de luz, sin embargo, a los 4 y 8 días en ambos tratamientos se observó un porcentaje similar de disminución (60%). Después de esta fecha se observó un ligero incremento del contenido de ácido málico en el tratamiento de luz (10%), no siendo así en el tratamiento de oscuridad. Estos incrementos fueron seguidos por una reducción fuerte e inmediata en el tratamiento de luz e igualmente sucedió aunque sin incrementos, en el tratamiento de oscuridad (Fig. No. 11).

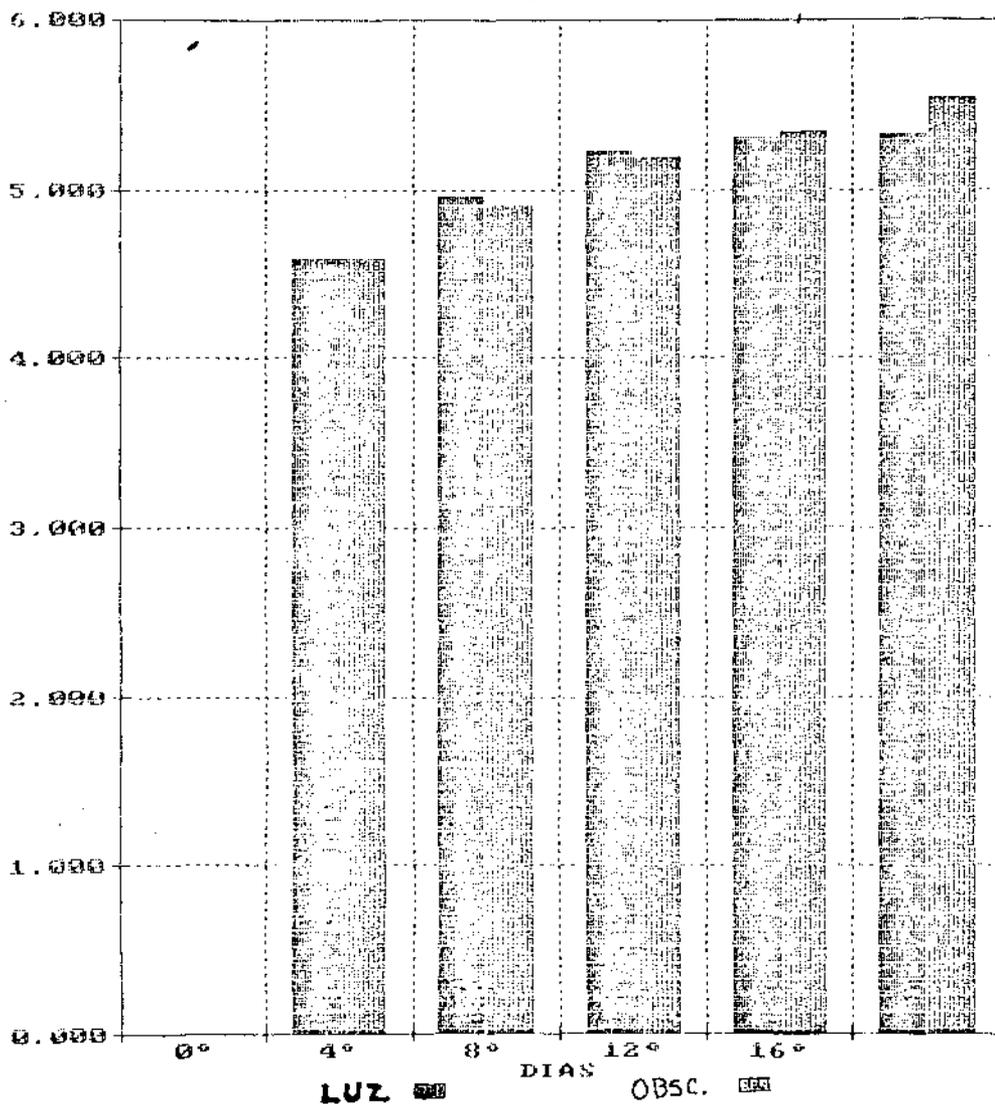
5.2.9 Valores de Peso fresco.

El peso fresco promedio registrado a diferentes intervalos de tiempo, cada 4, 8, 12 y 16 días en las evaluaciones manifestó una reducción en los gramos de peso de las pencas jóvenes durante su senescencia, tanto en tratamientos de luz como en oscuridad. Esta reducción al octavo día fue del 10% en ambos tratamientos. Posteriormente la pérdida de peso aumento gradualmente en el tratamiento de luz y oscuridad, siendo mayor a partir del día 12 en el tratamiento de oscuridad (50%) que en el de luz (35%). Luego de esta fecha la disminución de peso fue gradual en los dos tratamientos y más intenso aún en oscuridad.

Los resultados obtenidos en el presente experimento relacionados con la evaluación de senescencia en cladodios jóvenes de nopal, utilizando los cambios en el contenido de clorofila total, clorofila a y b, proteínas, azúcares, pH y acidez titulable difieren con los trabajos reportados en la literatura sobre éste tema. En general la mayoría de los estudios sobre senescencia reportan que la senescencia de tejidos

pH

Valores promedio



Valores promedio de unidades de pH durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y obscuridad.

ACIDEZ TITULABLE

Contenido Promedio

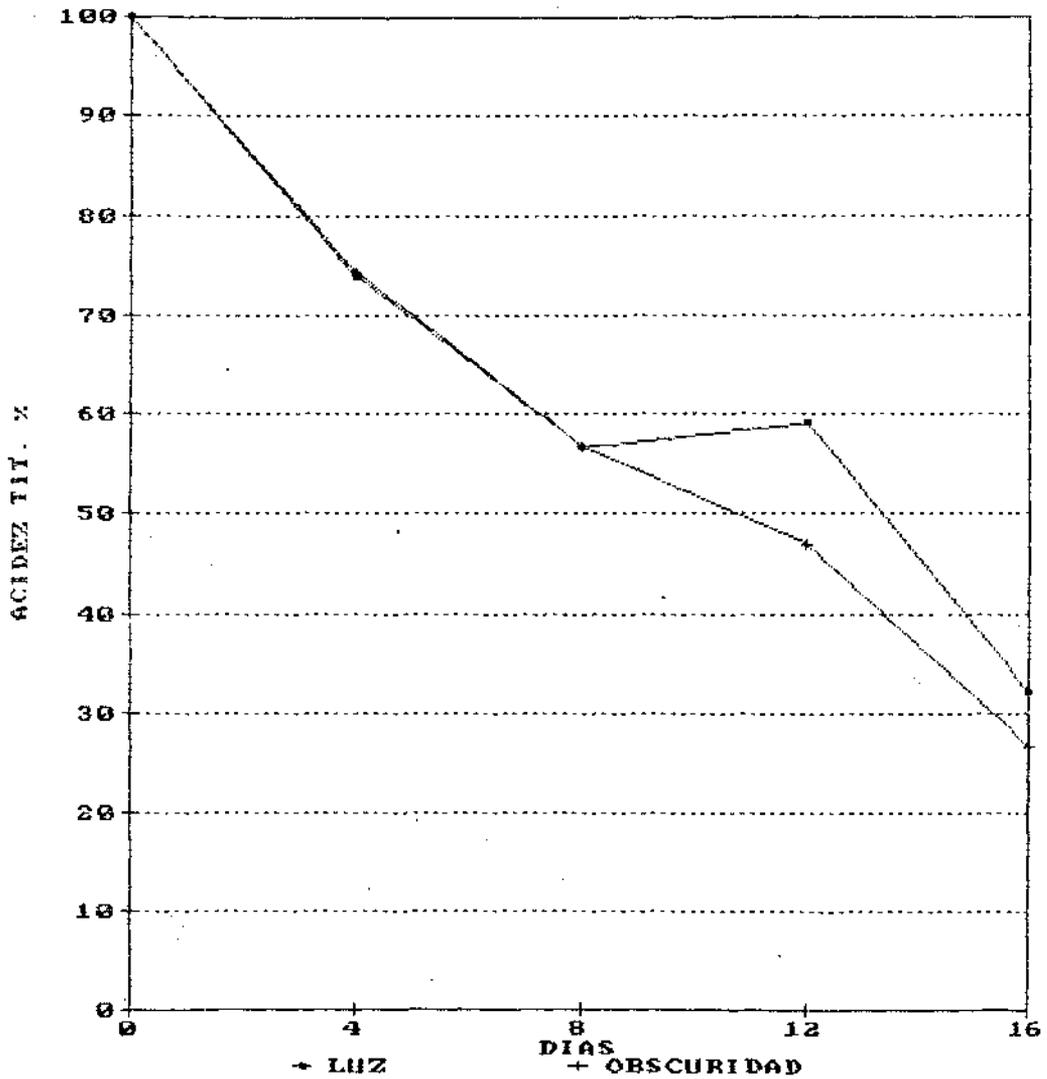
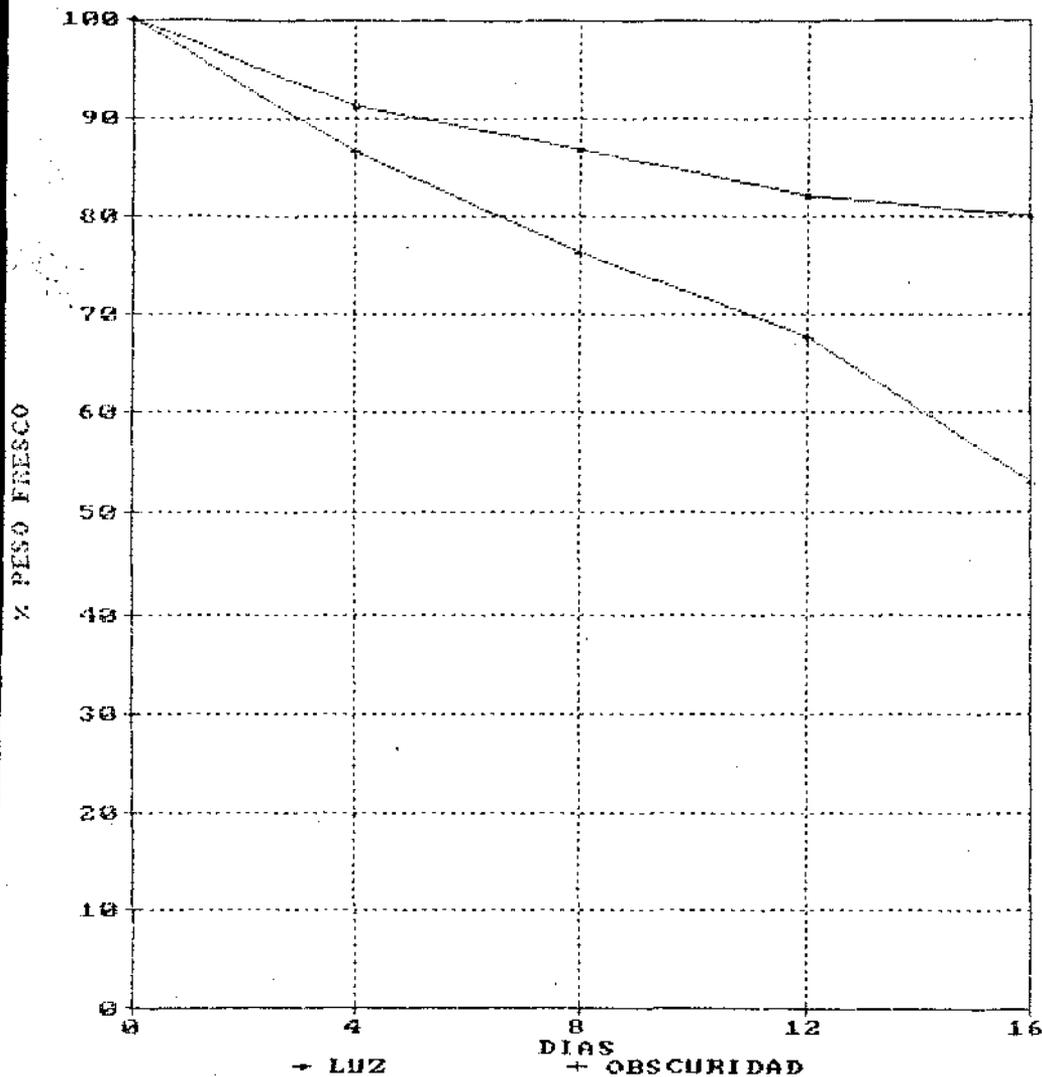


Fig. 11 Contenido promedio de ácido málico durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad

PESO FRESCO
 Contenido Promedio



Procedio de peso fresco durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y obscuridad.

vegetativos (hojas) es acompañada por reducción en el contenido de clorofila y proteína (Feller et al 1977); (Kar y Choudhun 1985); (Lewington et al, 1967), (Shaw y Quick, 1965) citados por (Naosuke et al, 1987), (De Kok y Graham, 1989), (Bidwell, 1976), (Yemm, 1956), incremento en la actividad proteolítica (Altman et al 1977), (Bidwell, 1976), (Wittenbach, 1979) citado por (Naosuke, 1988), (De Kok y Graham, 1988), cambios en ácidos nucleicos (Altman; 1977), (Bidwell, 1976), (Naosuke, 1988), (Lewinton et al, 1967) y niveles de carbohidratos (Yemm, 1956), (Bidwell, 1976), (Kar et al, 1985) en hojas.

En el caso de la clorofila en el presente experimento sobre senescencia se observó un incremento en su contenido tanto en el tratamiento de luz como en el de obscuridad. Este incremento en luz podría atribuirse inicialmente a las condiciones de temperatura, pues según Rojas (1986) el rango óptimo para que se efectúe el proceso de fotosíntesis es entre 26°C-30°C. La iluminación que es un factor básico para la síntesis de clorofila, junto con el aminoácido glicina y el succinil CoA (coenzima A) que es un intermediario del ciclo de Krebs. El aminoácido antes mencionado podría sugerirse que proviene de la acumulación que se produce de estos luego que la penca es separada de la planta, pues según De Kok y Graham (1989) en un experimento con hojas de Arabidopsis thaliana en hojas y retoños separados de la planta los aminoácidos contenidos pueden incrementarse por más de 200% antes de 48 horas de incubación en tratamientos de obscuridad y luz. El succinil CoA se produce durante el proceso respiratorio (intermediario del ciclo de Krebs).

Otra posible explicación se atribuye al efecto de intercambio entre materiales con la atmósfera que la apertura y cierre de estomas produce. Las cactáceas se caracterizan por presentar sus estomas cerrados durante el día y abiertos durante la noche cuando la temperatura y el déficit de presión de vapor son ordinariamente bajos (Fimienta, 1990) esto permite mantener cantidades de agua que facilitan los procesos de síntesis y retardo de envejecimiento. El cierre estomático durante el día y la apertura estomática en la noche de las penca sometidas al tratamiento de luz permitieron que el Metabolismo Ácido Grasuláceo continuara, obteniendo el CO₂ de la atmósfera, fijándolo y transformándolo por procesos bioquímicos y fotosíntesis en azúcares.

Detrás de la barrera del cerrado estomatal, la dinámica del el sistema metabólico de las plantas MAC guarda operaciones para la utilización y reciclaje de reserva de carbón existentes (Brulfer et al, 1987). Lo anterior nos explica que el CO₂ que se requiere en los procesos de síntesis no necesariamente proviene de la atmósfera, pues los niveles de carbono aumentan cuando el ácido málico es descarboxilado y los niveles de azúcares disminuyen al degradarse como sustratos respiratorios (Rojas, 1986).

+ Coenzima A

Un incremento en la cantidad de cloroplastos permite un aumento en el contenido de clorofila y consecuentemente de azúcares y proteína, pues de acuerdo con Rojas y Rovalo (1985) estos corpúsculos pueden sintetizar carbohidratos ya que sus moléculas guardan la energía luminica una vez transformada; además posee cierta autonomía genética porque lleva en el estroma DNA (Ácido desoxiribonucleico) y RNA (Ácido ribonucleico) específicos y diferentes de los que se presentan en el núcleo de la misma célula, los que pueden autoduplicarse, así como todo el cloroplasto puede también duplicarse.

Otro elemento importante a considerar es el fitocromo, pues actualmente se sabe que es determinante en muchos movimientos de las plantas y en los fenómenos de morfogénesis. El mecanismo de acción del fitocromo ha sido estudiado por Hendricks y Borthwick (1967), citados por Rojas (1985), quienes afirman que las diversas acciones de éste pueden explicarse con base en una regulación metabólica por cambios en la permeabilidad. Por su parte Mohr (1969) propone un control por represión y de represión de genes, con la consecuente variación en enzimas y hormonas. De acuerdo con Smith (1970) el fitocromo adsorbido a la membrana de la célula puede ligarse a una molécula X, activarla usando energía luminica y liberarla, para que efectúe una acción biológica que podría consistir en Transporte activo de iones, Niveles hormonales, activación de enzimas, acción ribosómica o transcripción génica, dando lugar a procesos anabólicos. Sugiyra (1963) demostró el retardo de la pérdida de proteína y clorofila en discos de hojas de Tabaco que se logró en luz roja-lejana. Indicando que esto involucra pigmentos protéicos (fitocromos).

Experimentos que también obtuvieron incrementos en el contenido de clorofila y otros componentes incluyen al de control nutricional de Regeneración y degradación de segmentos de cáscara de cítricos, en el que subieron los niveles de clorofila, azúcares totales y aminoácidos luego de colocar segmentos de cáscara de Naranja *C. sinensis* in vitro con 150mM de sucrosa y 60mM de Nitrato de Potasio después de 14 días bajo continua luz fluorescente (Huff, 1983). Lo anterior apoya la producción de azúcares a través de fotosíntesis, la síntesis de clorofila y proteína.

En el tratamiento de las pencas sometidas a obscuridad también se observaron incrementos en el contenido de clorofila y posteriormente degradación. El proceso de fotosíntesis disminuyó y se detuvo consecuentemente por factores limitantes básicos como la luz, impidiendo la síntesis de clorofila aún cuando en el medio existía glicina, succinil CoA, Magnesio y Hierro.

Es posible que los incrementos que se observaron inicialmente se deban a que la síntesis de clorofila se realizó a través de los aminoácidos acumulados una vez que la peca fue cortada proporcionando la glicina y el succinil CoA a través del ciclo de Krebs durante la respiración y la energía que propició éste proceso anabólico proviene de la almacenada por los fitocromos (P680 y P700). Conforme transcurrió la senescencia la

perdida de energía en los fitocromos detuvo los procesos de síntesis y dio lugar a la iniciación de los procesos de degradación.

Algunos incrementos en el contenido de clorofila bajo el tratamiento de obscuridad se reportaron en un experimento de regeneración cuando segmentos de Citrus paradisi se colocaron en un medio con 146mM de sucrosa y 60 mM de Nitrato de Potasio (Huff, 1983).

Más allá de la información detallada concerniente a mecanismos bioquímicos sobre catabolismo de proteínas en hojas senescentes se obtuvo con hojas separadas de la planta. Bajo estas condiciones muchos de los cambios asociados con vejez normal, son muy acelerados, tan solo después de relativos cortos periodos de tiempo, el amarillamiento y la descomposición de proteínas puede ser detectado enseguida. Experimentos con hojas separadas de Tabaco (Vickery, Pucher, Wakman y Leacanwoth, 1937, citados por Yemm, 1956) y Cebada (Yemm, 1937, 1950), tienen demostrado que un apreciable catabolismo de proteínas en cuanto al contenido fue contrario a lo anteriormente reportado, pues en ambos tratamientos (luz y obscuridad) se observó que la cantidad de proteínas en las pencas jóvenes se incremento.

En el tratamiento de luz este proceso de síntesis puede explicarse a partir del proceso de fotosíntesis que se presenta produciendo Ribulosa a través del ciclo de Calvin, luego a partir de ella Eritrosa, Acido Shiquímico, aminoácidos y finalmente proteínas.

Otro camino de síntesis que no involucra fotosíntesis lo sugiere Rojas (1985) quien afirma que la respiración, al liberar H^+ (hidrógenos) y e^- (electrones) en la oxidación terminal por los aceptores de energía (citocromos etc..) posibilita un intercambio de H^+ por cationes y de e^- por aniones, base de la absorción de sales; así toma la planta los iones del suelo: NO_3^- , PO_4^- , SO_4^- , Fe^{2+} , K^+ , etc... para construir las diversas moléculas. Reduciendo el NO_3^- y con los cetoácidos formados en el ciclo de Krebs, la planta fabrica aminoácidos y luego proteínas.

En las evaluaciones realizadas de las pencas sometidas al tratamiento de obscuridad durante senescencia se observó un incremento en el contenido de proteína hasta de un 100%. Este incremento podría explicarse si se considera a la glucosa como producto del catabolismo de otros azúcares que siguiendo el camino de glicólisis se transforman en ácido pirúvico, produciendo Acetil CoA (coenzima A) y a través del ciclo de Krebs liberando CO_2 y agua que se combina con el Nitrogeno proveniente de algunas sales, permite la síntesis de aminoácidos que forman proteínas.

En un experimento de control nutricional de regeneración y degradación de segmentos de cáscara de cítricos se observó un incremento en el nivel de aminoácidos luego de colocar los segmentos de cáscara in vitro con 150mM de sucrosa y 60 mM de Nitrato de Potasio después de 14 días bajo continua luz

fluorescente (Huff, 1983). En Citrus paradisi se observó un incremento en el total de azúcares y aminoácidos (u moles/disco) de 4.5 a 12. Los datos anteriores nos muestran recuperación, luego de agregar nutrientes adecuados y propiciar condiciones favorables. Es posible que el contenido nutricional de las pencas y el control de condiciones por apertura y cierre de estomas ayude también a la síntesis de proteínas, pues en un experimento de Debada, Park y Thimann (1990) demostraron que la síntesis de proteína es requerida para el movimiento estomatal de apertura y cierre; con el estoma abierto, en condiciones de luz se retarda la senescencia y en condiciones de oscuridad con el estoma cerrado el envejecimiento acelera.

El contenido de Azúcares durante el experimento mostró inicialmente estabilización debido al proceso fotosintético que se manifestó y posteriormente hubo degradación. La disminución continúa aunque en porcentajes relativamente bajos del contenido de azúcares a partir del día 12 posiblemente la explique el incremento en la actividad respiratoria pues los azúcares según (Yoon, 1986), (Rojas, 1985) y (Beever, 1975) incluyendo almidón, sacarosa, aceite graso, fructosa, etc., son convertidos a glucosa previamente a su oxidación y se utilizan en la respiración como sustrato.

Posiblemente los azúcares también fueron utilizados en procesos anabólicos como producción de proteínas a través de la glicólisis, ciclo de Krebs y unión de aminoácidos originando proteína.

Según Rojas (1985) otros productos de anabolismo que podrían ser elaborados incluyen polisacáridos, celulosa y lípidos siguiendo el camino de glicólisis originando compuestos de energía metabólica como el ATP (Trifosfato de adenosina) que permitan la síntesis.

La degradación de Azúcares fue mayor en el tratamiento de oscuridad que en el de luz. El proceso fotosintético en luz favorecerá su síntesis, al igual que el aumento en cloroplastos pues en estos también se produjeron.

El contenido de ácido málico que se obtuvo durante el proceso de senescencia en pencas jóvenes disminuyó conforme se realizaron las evaluaciones. Las cantidades de ácido fueron mayores en el tratamiento de luz que en el de oscuridad, explicándose por la mayor cantidad de carbohidratos que a través de la fotosíntesis se produjeron y su degradación dio lugar a la acumulación de ácido, pues según Wielan y Black (1987) establecen que la pérdida de hexosas por azúcares solubles es suficiente para relacionar con la acumulación de ácido málico.

En el caso de OH^- durante las evaluaciones los resultados mostraron una disminución en la acidez conforme avanzó la senescencia. Los valores registrados en el tratamiento de luz fueron más altos en cuanto a acidez que en oscuridad. La presencia en el citoplasma de iones de sodio y potasio además de una disminución de iones hidrógeno provenientes de la degradación

de compuestos orgánicos e inorgánicos explica la disminución de acidez durante la senescencia.

La diferencia entre el tratamiento de luz y oscuridad en cuanto a peso fresco, se atribuye al efecto estomatal. Las pencas sometidas al tratamiento de oscuridad mantuvieron los estomas abiertos, por lo que la pérdida de agua en estas fue mayor que en las del tratamiento de luz por mantener los estomas cerrados y aunque también en oscuridad hubo procesos de síntesis de clorofila, proteínas y azúcares la degradación de estos fue más rápida e intensa, igualmente la manifestación de síntomas de senescencia.

Es importante considerar que los procesos de síntesis además de ser apoyados y propiciados por factores como luz, temperatura y humedad también lo son por la producción de sustancias, tal es el caso de las citoquininas. Estas sustancias son sintetizadas en las raíces de las plantas, y aunque el mecanismo de acción no está totalmente claro, Mothes citado por Bidwell (1976) encontró que cuando se coloca en una hoja una gota de citoquinina, varios nutrientes orgánicos e inorgánicos son movilizados en áreas periféricas de la hoja y van hacia el área tratada con citoquinina. Por lo anterior se puede explicar el retardo aun más prolongado que en las pencas jóvenes se observó durante las dos últimas repeticiones, pues las condiciones ambientales de alta humedad y temperatura (25°C) favorecieron la producción de raíces en un 50% del total del material vegetal, las cuales permitieron que los síntomas senescentes tardaran hasta 37 días en manifestarse. En otras especies el amarillamiento se ha observado de hojas de Laurel cereza en 25 días, en hojas de Tropaeolum de 8 a 16 días y en hojas de Cebada de 2 a 3 días (Bidwell, 1976).

5.3 COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE VARIABLES MORFOLOGICAS DE CLADODIOS JOVENES DE NOPAL (Opuntia ficus-indica, Mill) Y TIEMPO DE SENESCENCIA.

En el cuadro No.2 del apéndice se presentan los coeficientes de correlación entre las variables morfológicas y el tiempo de senescencia de pencas jóvenes de nopal, el cual se puede observar en el caso de clorofila que la correlación en la repetición 1 y 3 resultó negativa y significativa, interpretándose como una disminución en el contenido de clorofila a través del tiempo de degradación.

Se realizaron cálculos de regresión de las variables correlacionadas que resultaron significativas y se obtuvo: Para la repetición No.1 que $y = 20.116 - 2.9x$ describiendo un decremento en el contenido de clorofila de $2.9 \mu\text{g/g}$ en promedio por cada día que transcurre de la fecha de corte a senescencia en el tratamiento de luz. En el tratamiento de obscuridad para esta repetición se obtuvo que $y = 24.05 - 3.80x$ indicando un decremento de $3.8 \mu\text{g/g}$ del contenido de clorofila por cada día que pasa de la fecha de corte a envejecimiento de pencas jóvenes. En la repetición No.3 del tratamiento de luz se obtuvo la ecuación: $y = 23.62 - 3.29x$ describiendo un decremento de $3.29 \mu\text{g/g}$ en el contenido de clorofila durante cada día del transcurso de senescencia. En el tratamiento de obscuridad se obtuvo $y = 24.65 - 2.61x$ indicando una disminución en el contenido de clorofila por cada día que pasa de la fecha de corte a envejecimiento de pencas jóvenes de nopal.

En promedio se tuvo un valor de correlación entre el contenido de clorofila y el tiempo de -0.685 en luz, indicando una correlación negativa entre las variables, pero no significativa; al realizar los cálculos de regresión se obtuvo la ecuación $y = 22.32 - 1.76x$ la cual indica una disminución de $1.76 \mu\text{g/g}$ por día que pasa durante la senescencia de pencas jóvenes de nopal en el contenido de clorofila total.

En el tratamiento de obscuridad el valor de correlación fue de -0.779 indicando una correlación negativa y no significativa entre la variable tiempo-clorofila. La ecuación de regresión fue $y = 23.53 - 3.9x$ indicando que por cada día que transcurre, el contenido de clorofila disminuye $3.9 \mu\text{g/g}$ diario durante senescencia.

En el caso de las proteínas el valor promedio de las correlaciones fue de 0.6264 siendo positiva y no significativa en el tratamiento de luz. Los cálculos de regresión dieron como resultado la ecuación $y = 1122.97 + 132.46x$, indicando un incremento promedio de 132.46mg/g de proteína por cada día que transcurre, durante la senescencia de los cladodios jóvenes en luz. En el tratamiento de obscuridad los cálculos de regresión dieron la ecuación $y = 490.02 + 333.62x$ indicando un incremento de 333.62mg/g de proteína por cada día que pasa, durante la senescencia, en el contenido de pencias jóvenes en obscuridad. El coeficiente de correlación fue 0.9173 siendo positivo y significativo, mostrando una correlación entre las variables proteína-tiempo en obscuridad; por esto la síntesis o incremento del contenido de proteína está en función del tiempo.

El coeficiente de correlación obtenido entre las variables tiempo- Azúcares totales fueron: En el tratamiento de luz de -0.5187 y en el de obscuridad de -0.538, indicando una correlación negativa y no significativa entre las variables tiempo- Azúcares totales. En el tratamiento de luz se obtuvo la siguiente ecuación, luego de calcular la regresión: $y = 0.176 - 0.012x$ manifestando una disminución de 0.012mg/g de Azúcares totales por cada día que pasa en el tratamiento de luz, y del tratamiento de obscuridad se obtuvo $y = 0.252 - 0.047x$, indicando una disminución de 0.047 mg/g de Azúcares totales, diarios durante el envejecimiento.

El valor promedio de correlación entre las variables Azúcares reductores- tiempo, fue: En luz -0.5187 y en obscuridad de -0.533 siendo en ambos negativa y no significativa.

Las ecuaciones de regresión obtenidas fueron para luz: $y = 0.092 - 0.016x$; para obscuridad $y = 0.092 - 0.0043x$. En ambos tratamientos se tuvo una disminución en el contenido de azúcares reductores con respecto al tiempo; la pérdida en mg/g fue en luz de 0.016 y en obscuridad de 0.043.

Los valores de correlación entre las variables pH - tiempo resultaron: para luz 0.9239 y en obscuridad de 0.988. Ambos tratamientos fueron positivos y significativos indicando que el incremento en pH está en función del tiempo que transcurre de senescencia. Los cálculos de regresión indican en el tratamiento de luz: $y = 4.73 + 0.0221x$ indica un aumento por día de 0.0221 unidades de pH de acidez a neutralidad, durante la senescencia de cladodios jóvenes.

Al comparar la variable de Acidez titulable con el tiempo se obtuvo la correlación: Para luz -0.9549 y para obscuridad de -0.9715, indicando una correlación negativa y significativa entre las variables. En luz resultó significativa al 0.05% y en obscuridad altamente significativa al 0.01%, por lo que la disminución del contenido de ácidos está en función del tiempo que transcurre de senescencia. Los cálculos de regresión fueron para el tratamiento de luz: $y = 25.81 - 4.115x$ mostrando una

disminución de 4.115% en el contenido de ácido málico durante la senescencia. En oscuridad la ecuación de regresión obtenida fue: $y = 24.42 - 4.17x$, indicando una disminución de 4.17% en el contenido de ácido málico por cada día que pasa durante la senescencia de pencas jóvenes.

La correlación calculada entre la variable tiempo - peso fresco fue: En luz de -0.974 y en oscuridad de -0.993 , resultando altamente significativa y negativa en ambos tratamientos; por lo tanto la pérdida de peso fresco está en función del tiempo. Los cálculos de regresión nos dan las siguientes ecuaciones: Para el tratamiento de luz $y = 35.29 - 0.957x$ y para el de oscuridad $y = 33.11 - 1.527x$. En el tratamiento de luz se tiene que por cada día que pasa la peca pierde 0.95 g de peso y en oscuridad la disminución es de 1.52 g diarios durante senescencia.

6. CONCLUSIONES

1.- Considerando los modelos de senescencia en las diferentes especies vegetales, el Nopal se incluye en el tipo simultáneo o secuencial.

2.- El proceso de senescencia en pencas jóvenes de Nopal se manifiesta con mayor rapidez e intensidad en condiciones de obscuridad que de luz.

3.- Los cambios morfológicos visibles que indicaron el inicio de la senescencia se caracterizaron por la presentación visual de los siguientes síntomas: Disminución de la intensidad del color verde y necrosis en el ápice del cladodio, en pencas jóvenes de nopal sometidas a condiciones de luz. En condiciones de obscuridad: Disminuye la intensidad de color verde, amarillamiento y necrosis.

4.- El proceso degradativo (necrosis) en ambos tratamientos inicia en la porción apical de las pencas y se va extendiendo gradualmente hacia la base.

5.- Durante la senescencia de pencas jóvenes de Nopal se registraron evidencias de la participación de procesos anabólicos (sintéticos) y catabólicos (degradativos) debido a que se registraron incrementos y decrementos en el contenido de : Clorofila y Azúcares totales.

6.- Los procesos anabólicos (sintéticos) solo se registraron en las proteínas pues su contenido se incrementó durante la senescencia de las pencas jóvenes.

7.- Únicamente se registraron procesos catabólicos (degradativos) en el caso de : Azúcares Reductores pues su contenido disminuyó durante la senescencia de las pencas jóvenes.

8.- La clorofila b es más estable que la clorofila a; también su contenido es mayor que el de la clorofila a tanto en condiciones de luz como de oscuridad.

9.- La senescencia fue más acelerada en condiciones de laboratorio, que bajo condiciones de exposición directa a luz solar.

10.- La producción de raíces en pencas jóvenes de nopal en condiciones de luz retardó la manifestación de síntomas senescentes.

11.- El proceso fotosintético en las pencas jóvenes de Nopal se mantiene activo aunque disminuya su intensidad durante el tiempo de senescencia.

12.- Las diferencias en la disminución de peso fresco de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad se atribuyen a la apertura y cierre de estomas.

7. BIBLIOGRAFIA

- Acevedo Edmundo, Badilla Ignacio y Nobel, S. Park (1983). Water relations diurnal acidity y changes and productivity of a cultivated cactus, Opuntia ficus-indica. Plant Physiol. 72,775 - 780.
- Altman Aris, Kaur-Sawhney R. y Galston W.A. (1977). Stabilization of Oat Leaf protoplasts through polyamine mediated inhibition of senescence. Plant Physiol. 60,570-574.
- Alvarado S.L. (1978). "Fisiología y bioquímica del desarrollo del fruto de nopal tunero Opuntia amyclases, Tenore". Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Baddley M.S. y Hanson J.B. (1967). Plant. Physiol. 44-1702.
- Baddley M.S. y Simon E.W. (1969). Exp. Bot. 20-94.
- Balz H.P. (1966). Planta 70,207.
- Beevers Leonard (1973). Senescence Plant. Physiol. 23.
- Bidwell R.G.S. (1976). Fisiología Vegetal 2da. Edición. AGT Editor 784p. México.
- Borrego E.F. (1982). Mejoramiento genético de Nopal (Opuntia spp). Tunero y Forrajero, Saltillo, México. UAAAN (Informe de Investigación).
- Borrego F. y Burgos V.N. (1986). El Nopal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 202p. Coahuila, México.
- Bravo Hollis H. (1978). Las cactáceas de México (vol.1). Universidad Nacional Autónoma de México, México 743p.
- Brulfert J. Kluge M., Guerrier D. y Queiroz O. (1987) . Characterization of carbon metabolism in Opuntia ficus-indica, Mill. exhibiting the Idling mode of crassulacean acid metabolism. Planta 170: 92-98.

Butler R.D., Simon E.W. (1970). Ultrastructural aspects of senescence in planta. Res. 3: 73-129 Gerontol.

Cactáceas (1971). Enciclopedia de México. Tomo II. Editorial Mexicana st. de C.V. 1211 p. México.

Castañeda Reyes P. (1985). Biestadística aplicada. Trillas. 216p. México.

CODAGEM (1974). Cultivo, explotación y aprovechamiento del Nopal en México. Folleto de Información No. 158.

Ehriball A.C. (1939). New Phitol 59,31.

Choo, T.H. y K.V. Thimann (1975). The metabolism of oat leaves during senescence. III. The senescence of isolated chloroplasts. Plant. Physiol. 55,828.

Delgado Alvarado Adriana (1985). Tesis. Caracterización de la variación de algunos componentes químicos del fruto ("Tuna") de nopal (*Opuntia* spp) Tunero en el altiplano Potosino-Zacatecano. Universidad Veracruzana, Veracruz, México.

De Kok Luit. J. y Graham M. (1989). Level of pigments, soluble proteins, amino acids and sulfhydryl compounds in foliar tissue of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced and natural senescence. Plant Physiol. Biochem 27 (2), 203-209. Australia.

Feierabend J. Mikus M. (1977). Occurrence of a high temperature sensitivity of chloroplast ribosome formation in several higher plants. Plant Physiol. 59:863-867.

Felipe C.R. (1985). "La selección natural de los sistemas de cruzamiento en *Opuntia robusta*. Tesis de Maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México 133p.

Font Quer P. (1977). Diccionario de Botánica. Barcelona. Editorial Labor, S.A. España 1244p.

Ganiño Martínez M.A. (1985). Tesis de maestría en ciencias. Respuestas del Maíz a cuatro tamaños de microfrecuencias y diferentes arreglos topológicos bajo temporal deficiente en Sandoval Aquescalientes. Colegio de Postgraduados. Centro de Edafología, Chapingo, México.

Goldthwaite J., Jonathan y Laatsch W.M. (1967). Regulation of senescence in Bean leaf discs by light and chemical growth regulators. Plant. Physiol. 12,1757 - 1762.

Halperin W. (1978). Organogenesis at the shoot apex. Plant. Physiol. 29: 239 - 268.

Hisco I.C. (1973). Plant responses to water stress. Ann Rev. Plant. Physiol. 24: 519 - 570.

Huff Albert (1983). Nutritional control of regreening and degreening in citrus peel segments. *Plant. Physiol.* 73: 243 - 249.

Hurtado M.D. y Merino M.E. (1988). Cultivo de tejidos vegetales. Trillas 232p. México.

Instituto de Geografía y Estadística (1977). Análisis geoeconómico Tlaquepaque. Universidad de Guadalajara 37p. Jalisco, México.

Jones R.L. and Phillips I.D. (1966). *Plant. Physiol.* 41, 1381.

Kar R.K. and M.A. Choudhuri (1985): Senescence of hydrilla leaves in light and darkness. *Physiol Plant.* 63: 225 - 230.

Kawase M. y Leopold A.C. (1961). Benzyladenina effects on Bean Leaf growth and senescence *Amer. Jour. Bot.* 51 (3): 291 - 298.

Kende H. y Tavares J. (1978). The effect of Benzylaminopurine on protein metabolism in senescing corn leaves. *Phytochemistry* vol.9 pp 1763. Michigan USA.

Kluge N. e I.P. Ting (1978). *Crassulacean acid metabolism.* Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 209p.

Kuraishi S. (1976). Ineffectiveness of cytokinin-induced chlorophyll retention in hypostomatus leaf discs. *Plant. cell Physiol.* 17: 857-75.

Lakshminarayana S. e I.B. Estrella (1978). "Postharvest respiratory behavior of tuna (prickly pear) fruit (*Opuntia robusta*, Mill) 170. *J. Hort. Sci.*, 53(4): 327 - 330.

Lawington R.J, Talbot y E.W. Simon (1967). The yellowing of attached and detached cucumber cotyledons. *J. Exp. Bot.* 18: 526 - 534.

Little M.T. y Jackson H.F. (1987). Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Trillas. 270p. México.

Mayak S. y Halevy A.H. (1970). *Plant. Physiol.* 45, 479.

Mayak S. y Halevy A.H. (1978). Flower senescence. *Plant. Physiol.*

Naosuke Niij, Kawano S., Nakamura S. y Kuroiwa T. (1983). Changes in the fine structure of chloroplasts and chloroplast DNA of peach leaves during senescence *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 57(3): 390 - 398.

Osborne D.J. (1963). *Plant. Physiol.* 37, 595.

Osmond B.C. (1978). "Crassulacean acid metabolism. A curiosity in context". *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 29: 279 - 414.

Park J. y Thimann V.K. (1990). Senescence and stomatal aperture as affected by antibiotics in darkness and light. *Plant Physiol.* 92, 596 - 702.

Pearson J.A. Thomas, K. Thomas H. (1978). Nucleic acid from leaves of a yellowing and non-yellowing variety of Festuca pratensis Huds. *Planta.* 144: 85-87.

Peterson T.W., Huffaker R.C. (1975). Loss of ribulosa 1,5 diphosphate carboxylase and increase in proteolytic activity during senescence of detached primary barley leaves. *Plant Physiol.* 55: 1009 - 1015.

Pimente B.E. y E.M. Engleman (1981). "Estudios del desarrollo de la yema floral y el fruto en Nopal". III Congreso Nacional de Fruticultura, Guadalajara, Jal. 222p.

Pimente Barrios E. (1990). El Nopal Tunero. Universidad de Guadalajara. 246p. México.

Purvis A.C. (1980). Sequence of chloroplast Degreening in Calamondin fruit as influenced by ethylene and AgNO₃. *Plant. Physiol.* 66: 624 - 627.

Rost, L. Barvain M.G. y Thornton M.R. (1988). Botánica. Introducción a la Biología Vegetal. Limusa 465p. México.

Rojas Garcidueñas Manuel y Rovalo Magdalena (1985). Fisiología Vegetal Aplicada. Tercera edición. Mc Graw Hill. 502p. México.

Sanish Y.B. y S. T. Ellern (1975). Tritatable Acids in Opuntia ficus-indica, Mill. L. Dept. of Bot. Tel Aviv. Jardel Journal of Range Management, 28 (3): 355 - 369.

Shimizu S. Tamaki E. (1963). Chlorophyllase of tobacco planta. II. Enzimic phytylation of chlorophyllide and phephorbide in vitro. *Arch Biochem. Biophys* 102, 152 - 53.

Siga H.T. (1973). Plant responses to water stress. *Ann Rev. Plant. Physiol.* 24: 519 - 70.

Smith D. (1970). *Nature.* 227: 665 - 668.

Sugura M. (1963). Effect of red and farred light on protein and phosphate metabolism in tobacco leaf discs. *Bot. Mag.* 76. 174 - 80.

Tetley M. Thiman K.V. (1974). The metabolism of oat leaves during senescence. *Plant. Physiol.* 54: 294 - 303.

Ting I.P. (1983). "Carbon cycling and crassulacean acid metabolism", in the Biology of Desert Research. *Physiol.* 20-22.

Trewas A. (1970). *Plant. Physiol.* 45,742.

Sutton B.G. Ting, F.J. Sutton R. (1981). Carbohydrate metabolism of cactus in Desert environment. *Plant Physiol.* 68, 784 -787.

Thomas Howard and Stoddart J.L.(1980). Leaf senescence. *Plant. Physiol.* 34: 81-111.

Udvardy y J. Farkas F.L., Marré E. and Forti (1967) *Physiol Plant.* 20,781.

Udvardy J. y Farkas F.L.(1972) *J. Exp. Bot.* 23,914.

Vance A.P., Anderson J.O., Sherwood R.T. (1976). Soluble and cell wall peroxidases in reed canary grass in relation to disease resistance and localised lighth formation. *Plant. Physiol.* 57: 920 - 922.

Villareal A. (1958). El Nopal como forraje para el ganado en primer congreso de investigación Agrícola de México, Chapingo, México. Escuela Nacional de Agricultura, pp 210 - 220.

Wieland C.N. y Black B.C. (1989). Soluble Sugars as the Carbohydrate Reserve for CAM in Pineapple leaves. *Plant Physiol.* 90, 91 - 100 .

Woolhouse H.W. y Batt. T. (1976). The nature and regulation of senescence in plastids. In *Perspectives in experimental Biology*. Vol.2- Botany Wd.pp 163 - 165 .

Yemm E.W. (1956). The metabolism of senescent leaves.

Coefficientes de Correlación

Cuadro No.5. Coeficientes de correlación entre las variables clorofila, proteínas, azúcares totales, azúcares reductores, pH, acidez titulable y peso fresco en relación con el tiempo en pencas jóvenes de nopal bajo tratamientos de luz.

TIEMPO	Cl	P	AT	AR	pH
No. 1	-0.866	0.673	-0.830	-0.610	0.960
No. 2	-0.110	0.164	-0.750	0.060	0.630
No. 3	-0.770	-0.832	0.420	-0.670	0.650
No. 4	-0.050	0.733	-0.050	-0.690	0.200
PROMEDIO	-0.680	0.626	-0.510	-0.910	0.920

Cuadro No.7 Coeficientes de correlación entre las variables. clorofila, proteína, azúcares totales, azúcares reductores, pH, acidez titulable y peso fresco en relación con el tiempo en pencas jóvenes de nopal bajo tratamiento de obscuridad.

TIEMPO	Cl	P	AT	AR	pH
No.1	-0.859	0.846	-0.819	-0.565	0.940
No.2	0.007	0.483	-0.696	-0.413	0.907
No.3	-0.963	-0.763	0.250	-0.800	0.793
No.4	0.821	-0.113	-0.908	-0.564	0.862
PROMEDIO	-0.779	0.917	0.538	-0.506	0.989

Cuadro No.9 RESULTADOS PROMEDIO DE LAS REPETICIONES

DIA	CLOROFILA LUZ		CLOROFILA OSCURIDAD	
	TOTAL (Microgramos por gramo)	A B	TOTAL (Microgramos por gramo)	A B
0	23.150	13.070	23.150	13.070
4	21.530	11.070	16.520	5.080
8	16.050	5.990	22.100	9.440
12	20.120	10.070	13.050	5.130
16	17.540	10.230	11.290	5.420

DIA	AZUC. REDUC.		pH	
	LUZ (mg./g)	OSCU. (mg./g)	LUZ Unidades	OSCU. Unidades
0	0.203	0.203	4.590	4.590
4	0.133	0.128	4.960	4.900
8	0.152	0.256	5.230	5.200
12	0.098	0.064	5.310	5.340
16	0.157	0.024	5.330	5.540

DIA	ACIDEZ TIT.		PESO FRESCO		PROTEINAS	
	LUZ (ml.)	OSCU. (ml.)	LUZ (g)	OSCU. (g)	LUZ (mg./g)	OSCU. (mg./g)
0	27.300	27.300	42.630	42.630	1343.43	1343.43
4	20.200	20.300	38.980	36.900	1245.82	997.94
8	15.300	15.470	36.960	32.450	978.63	949.17
12	16.150	12.850	35.000	28.830	1485.97	1389.20
16	8.750	7.250	34.120	22.590	1833.70	1955.00

Cuadro No.10 CORRELACION Y REGRESION (promedio de repeticiones)

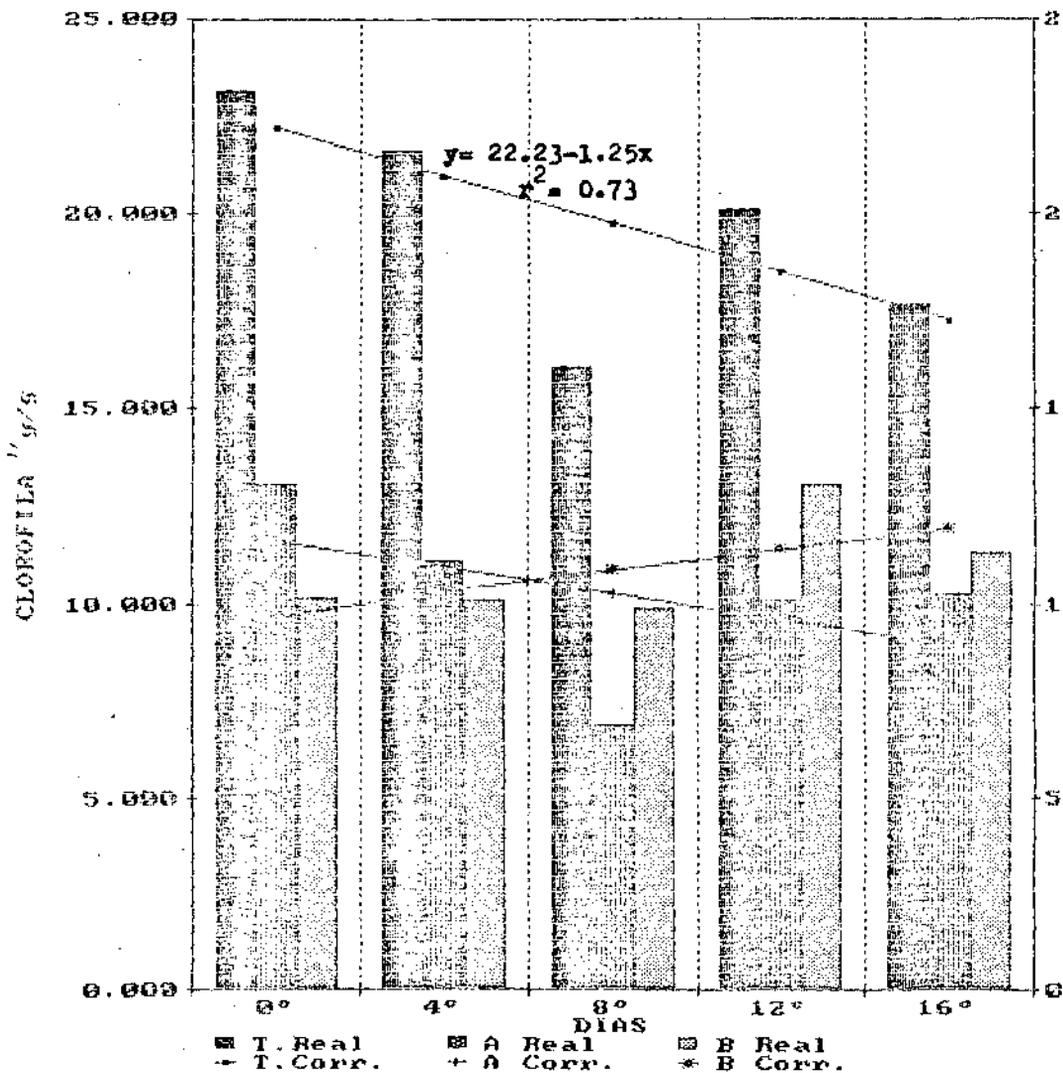
DIA	CLOROFILA LUZ		CLOROFILA OSCURIDAD	
	TOTAL (Microgramos por gramo)	A B	TOTAL (Microgramos por gramo)	A B
0	23.23	11.59	23.53	10.38
4	20.13	10.92	19.63	9.15
8	19.73	10.25	15.73	7.62
12	18.48	9.58	11.83	6.09
16	17.23	8.91	7.93	4.56

DIA	AZUCARES TOTALES		AZUCARES RED.		pH	
	LUZ (mg./g)	OSCU. (mg./g)	LUZ (mg./g)	OSCU. (mg./g)	LUZ Unidades	OSCU. Unidades
0	0.176	0.176	0.0928	0.0928	4.718	4.718
4	0.133	0.204	0.076	0.077	4.901	4.731
8	0.15	0.157	0.059	0.073	5.084	4.774
12	0.137	0.11	0.043	0.069	5.257	4.795
16	0.125	0.063	0.02	0.064	5.45	4.818

DIA	ACIDEZ TITUL.		PESO FRESCO		PROTEINAS	
	LUZ (ml.)	OSCU. (ml.)	LUZ (g)	OSCU. (g)	LUZ (mg./g)	OSCU. (mg./g)
0	25.81	25.81	100	100	1122.71	1122.71
4	21.67	20.23	92.5	87.8	1330.44	893.64
8	17.23	14.05	87.5	76.1	1381.91	1157.26
12	13.45	11.97	83.3	68.5	1520.37	1490.58
16	9.53	7.7	79.3	35.5	1632.84	1824.5

GRAFICA COMPARATIVA

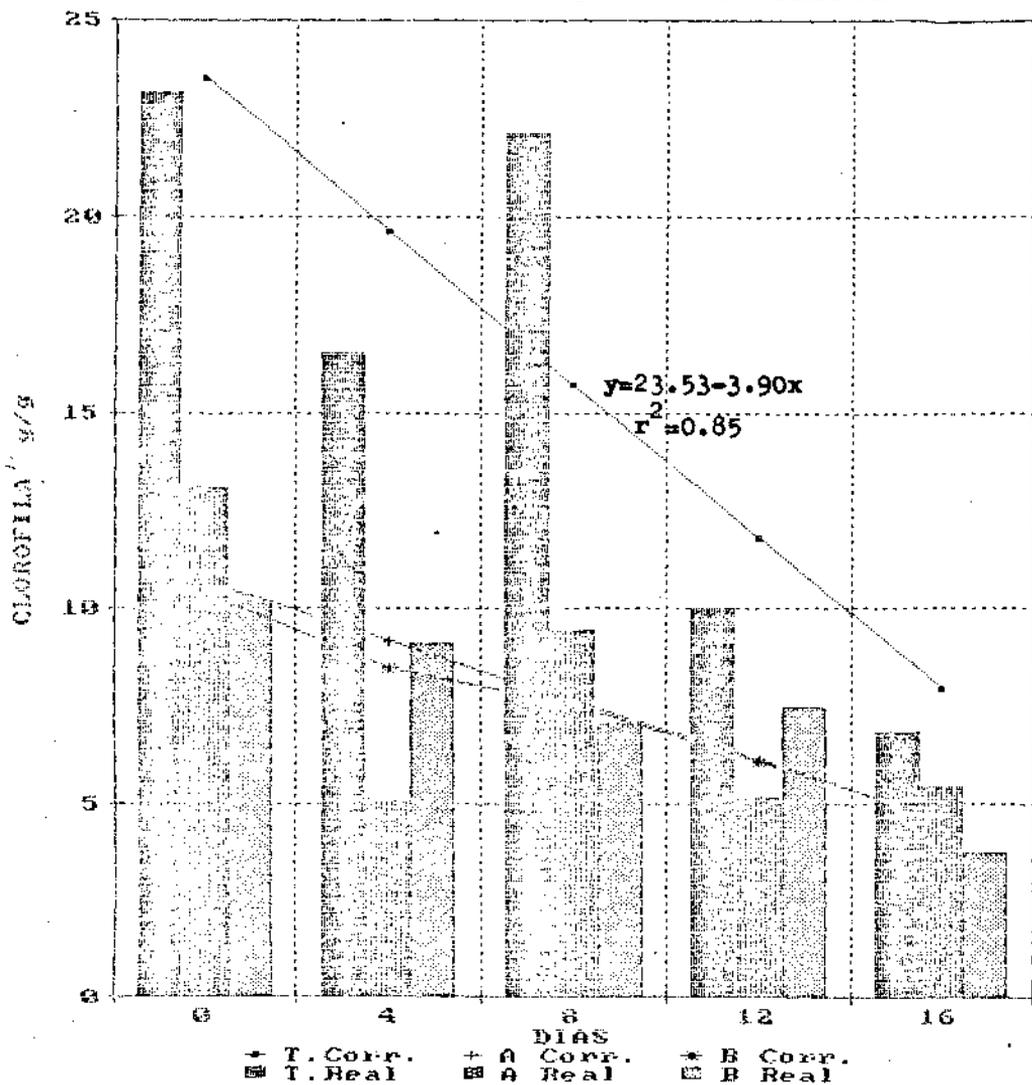
Clorofila total, A y B en Luz



Líneas de regresión del contenido de clorofila total, clorofila a y b contra el tiempo en condiciones de luz en pencas jóvenes de Nopal.

GRAFICA COMPARATIVA

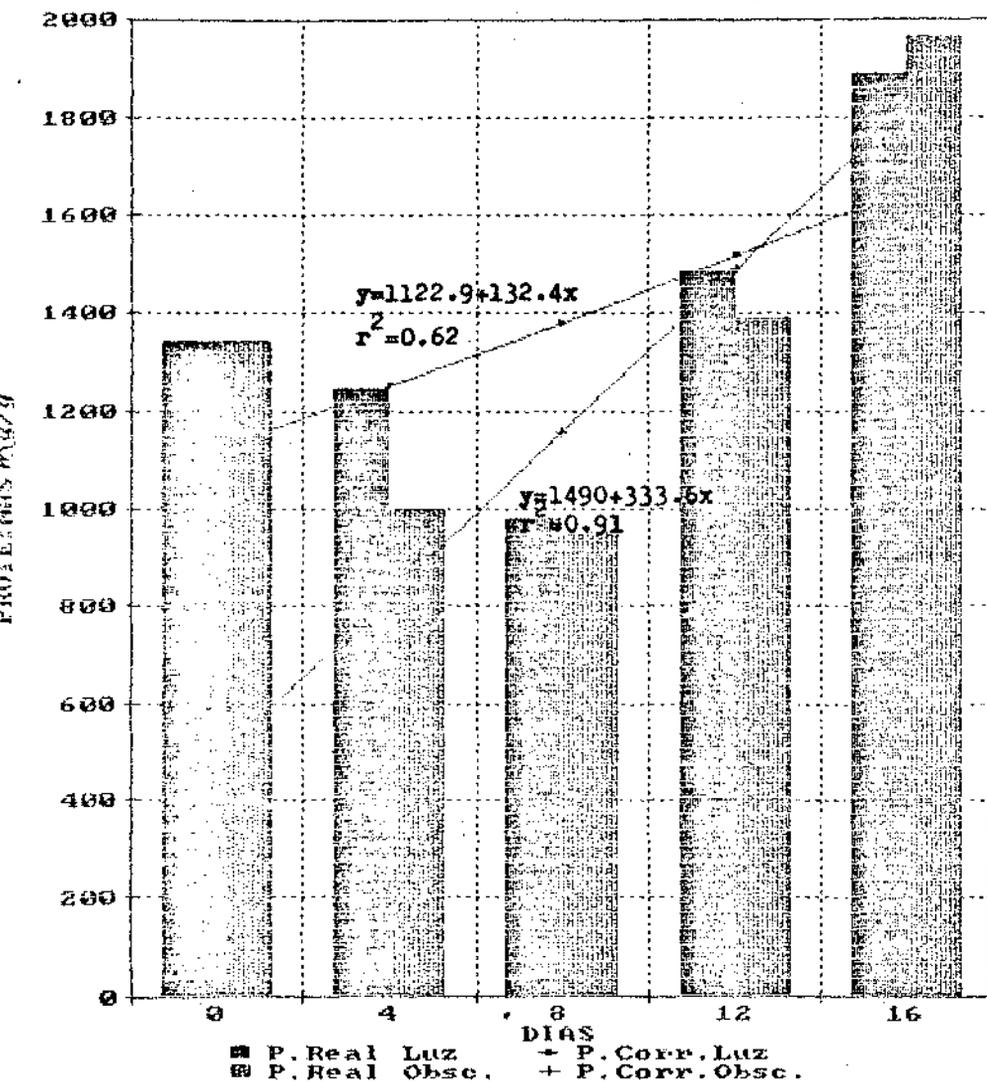
Clorofila total, a y b en obscuridad.



14 Líneas de regresión del contenido de clorofila total, clorofila a y b contra el tiempo en condiciones de obscuridad en pencas jóvenes de Nopal.

GRAFICA COMPARATIVA

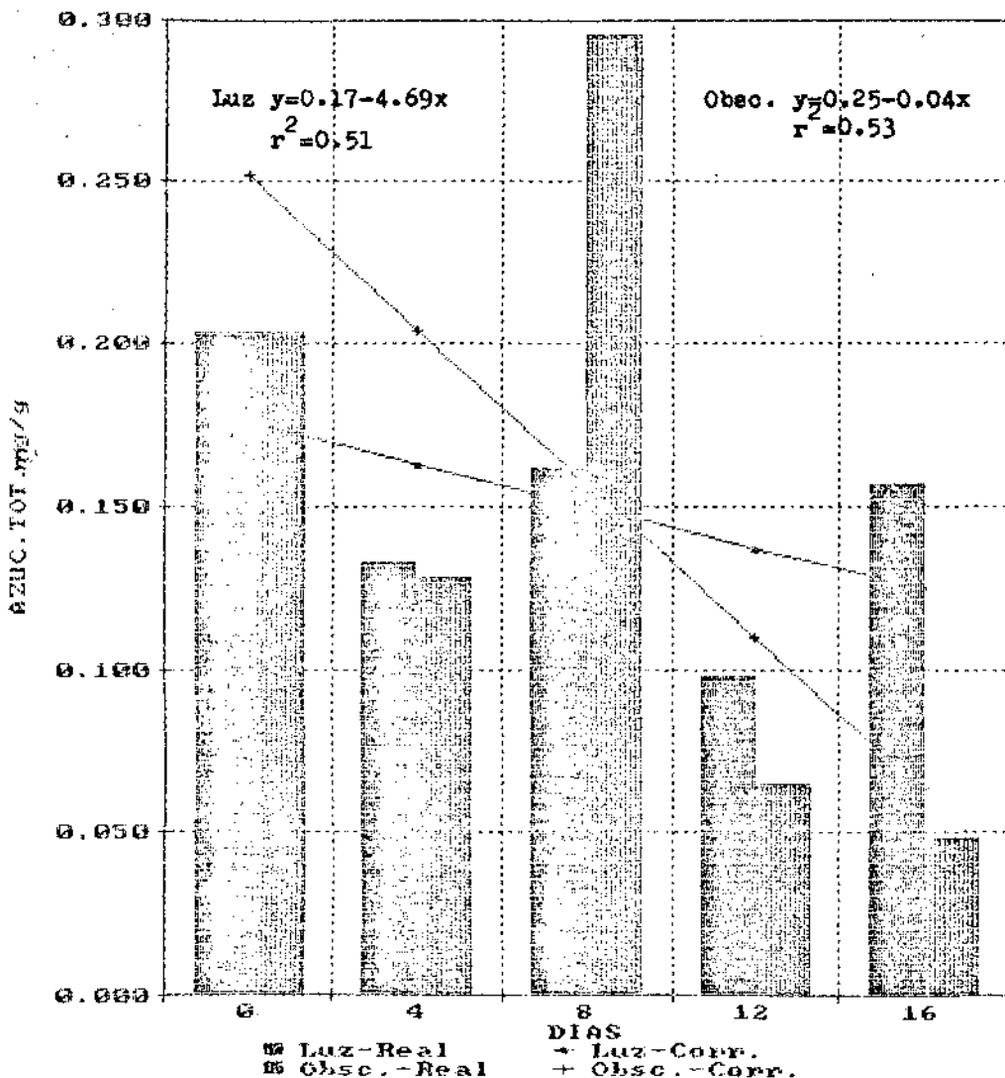
Contenido de Proteina en Luz y Obsc.



Líneas de regresión del contenido de proteínas contra el tiempo bajo condiciones de luz y oscuridad de pencas jóvenes de Nopal.

GRAFICA COMPARATIVA

Azúcares Totales en Luz y Oscuridad

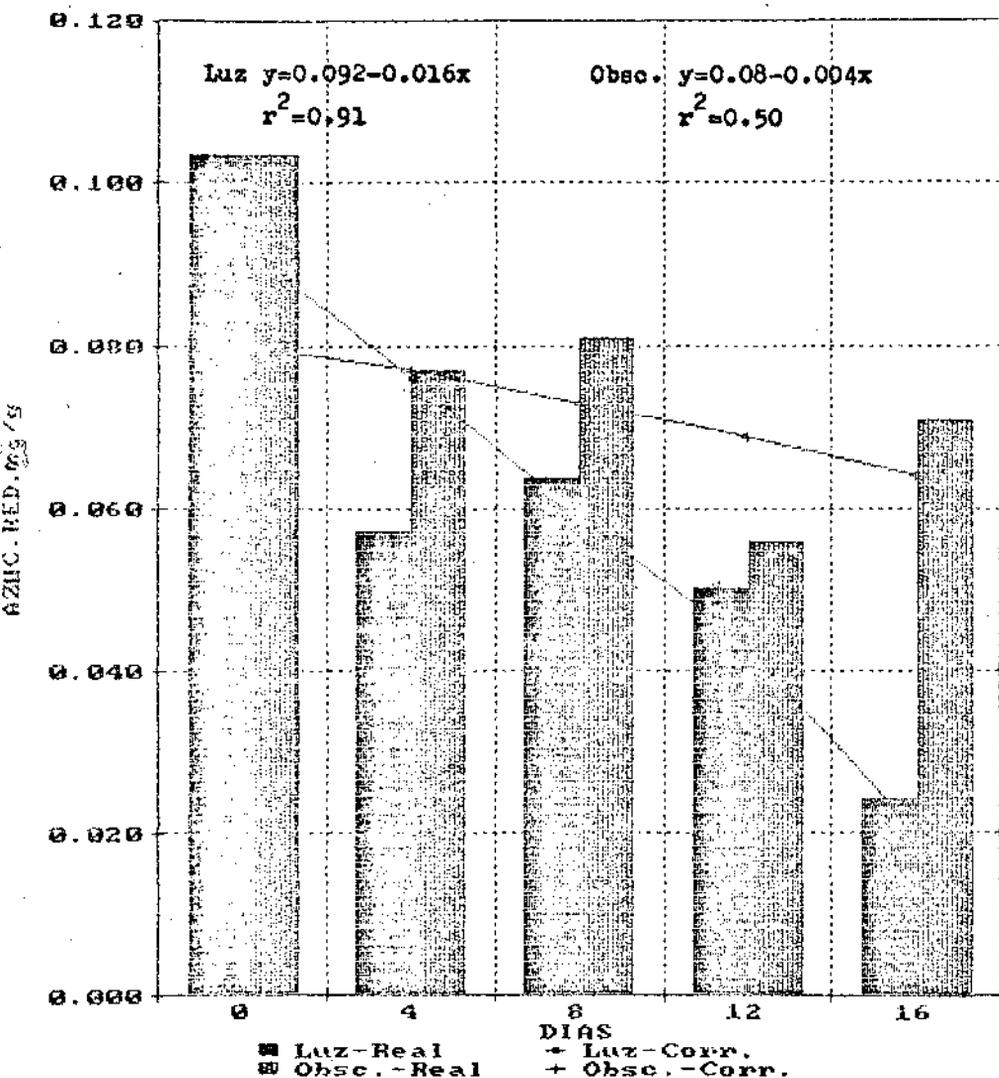


Pl 16

Líneas de regresión del tiempo contra el contenido de Azúcares totales bajo condiciones de luz y oscuridad de pencas jóvenes de Nopal.

GRAFICA COMPARATIVA

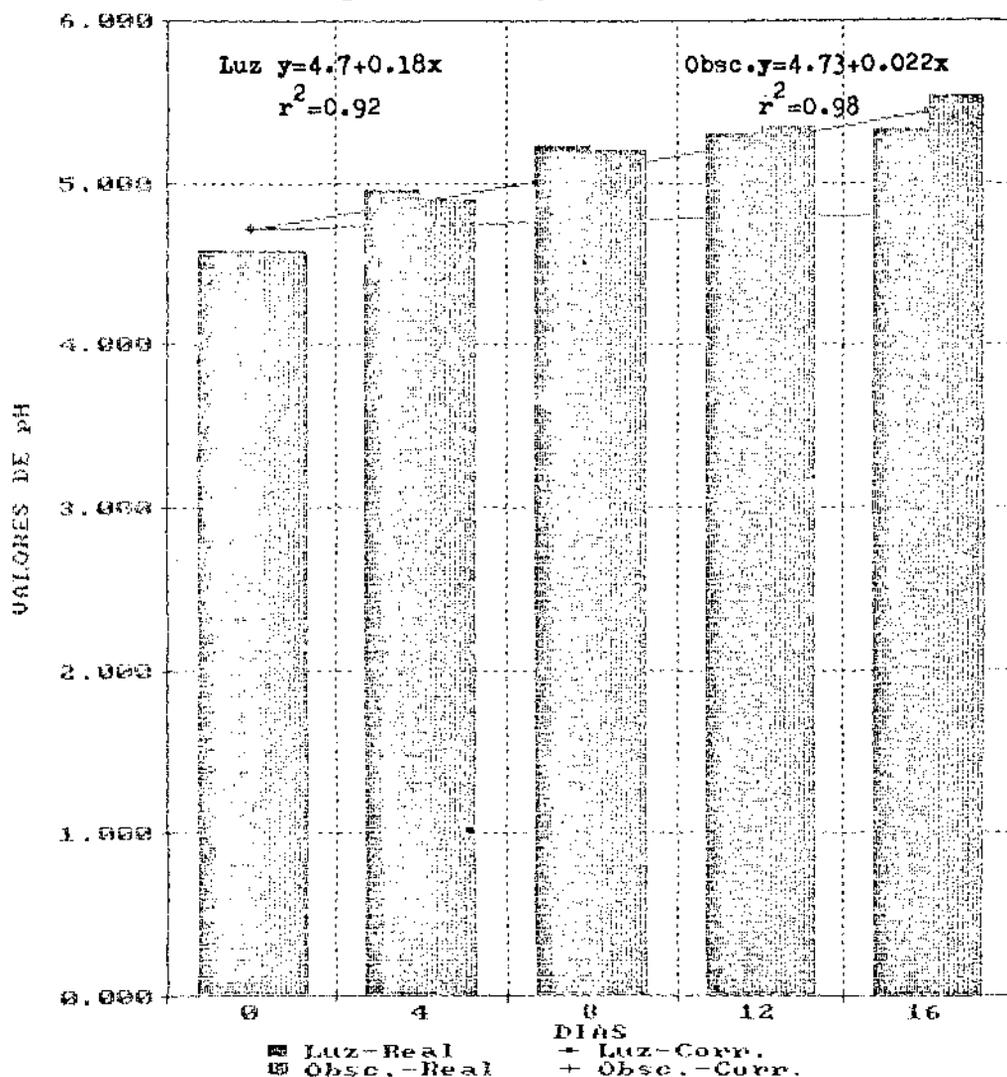
Azúcares Reductores en Luz y Obsc.



17 Líneas de regresión del contenido de Azúcares reductores contra valores de tiempo bajo condiciones de luz y obscuridad en pencas jóvenes de Nopal.

GRAFICA COMPARATIVA

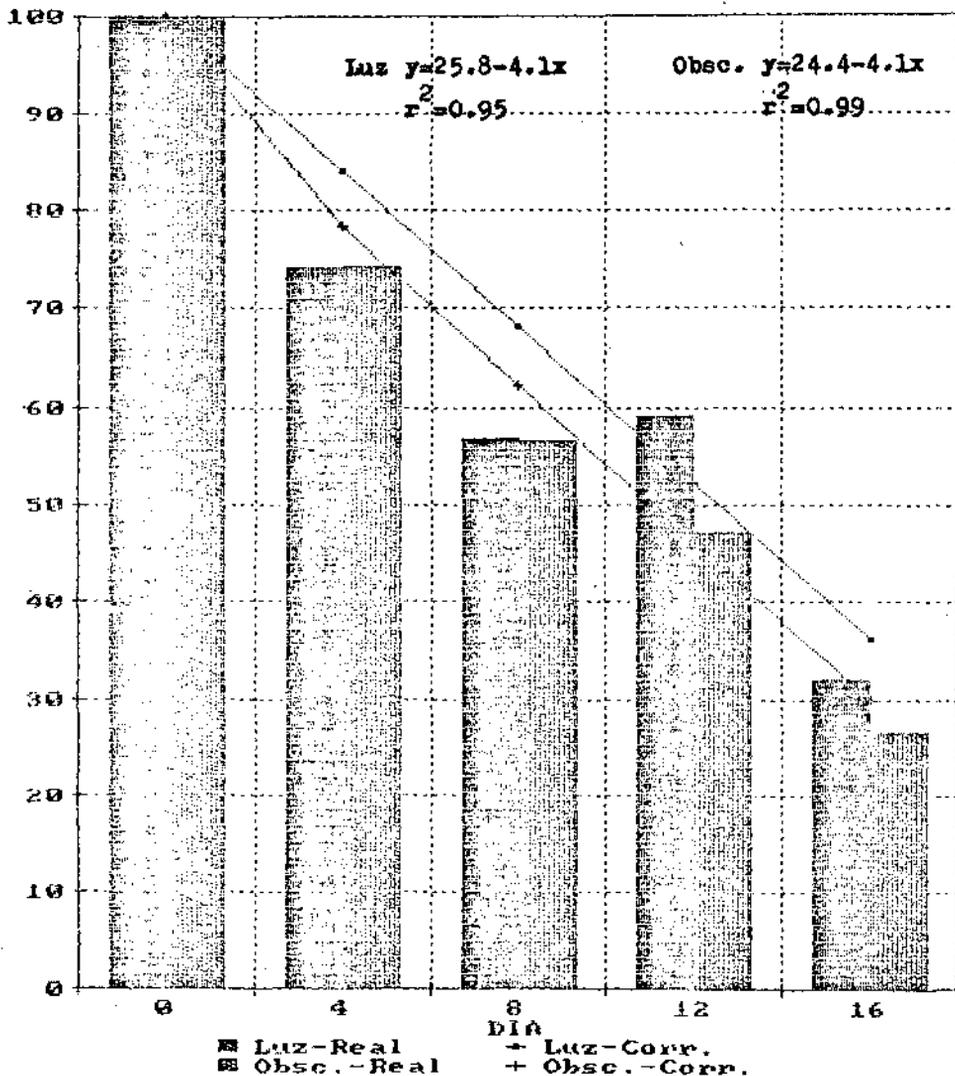
pH en Luz y Oscuridad



19 Líneas de regresión de valores de pH contra días de senescencia bajo condiciones de luz y oscuridad en pecas jóvenes de Nopal.

GRAFICA COMPARATIVA

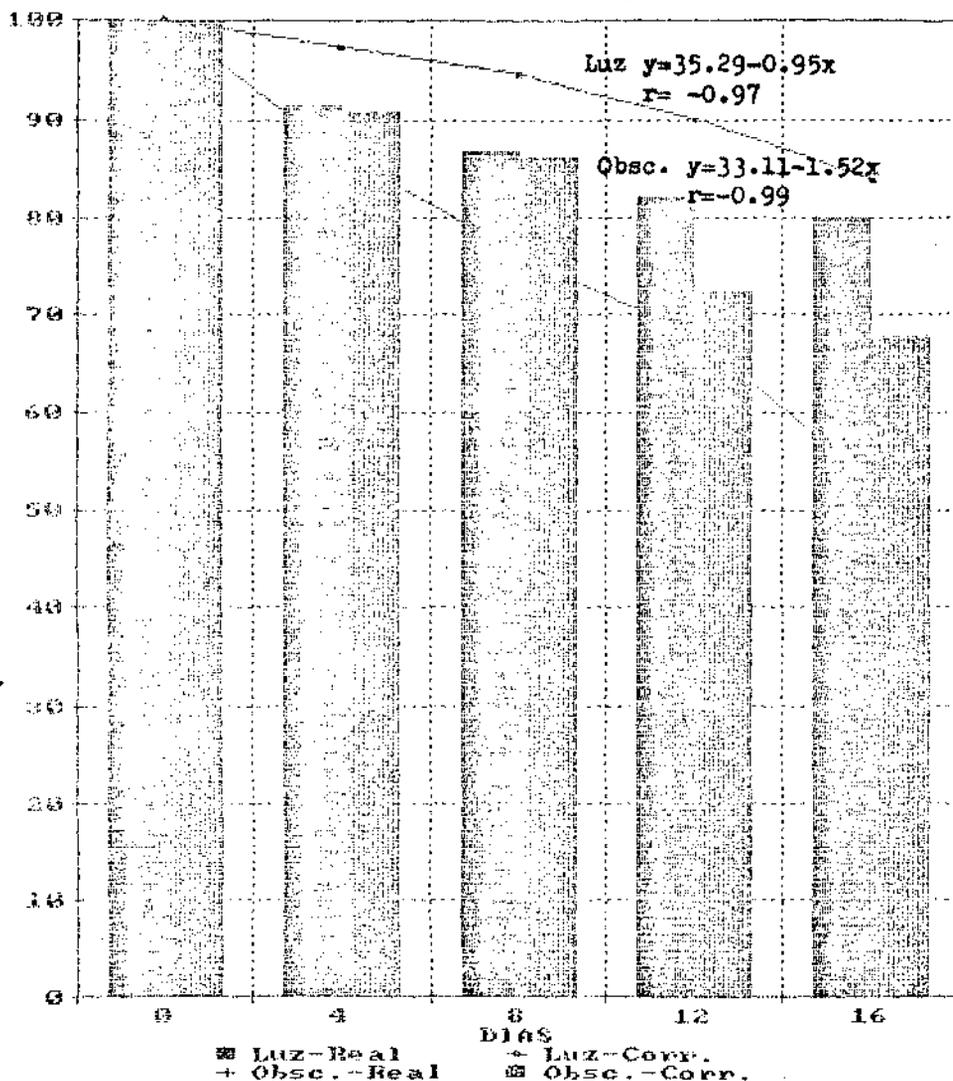
Acidez Tit. en Luz y Obsc.



Líneas de regresión del porcentaje de acidez titulable contra días de senescencia de pencas jóvenes de Nopal en condiciones de luz y obscuridad.

GRAFICA COMPARATIVA

Peso Fresco en Luz y Obsc.



Relación de peso fresco con el tiempo de senescencia de pencas jóvenes de Nopal bajo condiciones de luz y oscuridad.