

1
2ej
300627



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

METABOLISMO Y FUNCION DE POLIAMINAS EN PLANTAS SUPERIORES

T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MARIA ROSA CARRERAS DE PAZ



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Pag.
CAPITULO 1	
Introducción	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Historia	5
1.3 Presencia y su distribución en la naturaleza	7
CAPITULO 2	
Biosíntesis, Regulación e Inhibición de Poliaminas	
2.1 Biosíntesis	11
2.2 Regulación	15
2.3 Inhibidores de la síntesis de Poliaminas	19
CAPITULO 3	
Catabolismo de Poliaminas	27
CAPITULO 4	
Efecto de las Poliaminas sobre la Germinación	34

	Pag.
CAPITULO 5	
Efecto de las Poliaminas sobre el Crecimiento	59
CAPITULO 6	
Efecto de las Poliaminas sobre el Envejecimiento y Daño Tisular	78
CAPITULO 7	
Posibles Aplicaciones en Fruticultura	97
CAPITULO 8	
Conclusiones	101
Glosario	103
Nombres Botánicos	105
Bibliografía	

INTRODUCCION

Las poliaminas, espermina, espermidina y putrescina han sido detectadas en varios sistemas celulares. La mayor parte de la información sobre su biosíntesis, regulación y participación fisiológica, ha sido obtenida a partir de estudios realizados en microorganismos y en células de mamíferos.

En las plantas el interés en las poliaminas se ha ido incrementando en los últimos años porque están implicadas en el control del metabolismo de los ácidos nucleicos, síntesis de proteínas "in vitro" e "in vivo", además de inducir la división celular y crecimiento y retardar el envejecimiento tisular, (62). El objetivo de la presente revisión bibliográfica es con el fin de recopilar y resumir la amplia información sobre el tema organizandola de forma util para posteriores estudios.

1.1 GENERALIDADES.

Las poliaminas, espermina, espermidina y putrescina son bases nitrogenadas no protéicas de bajo peso molecular que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, (61), y que están presentes en los sistemas bioló-

gicos de crecimiento rápido, (45).

La espermina y la espermidina son derivados aminopropílicos de la putrescina. En las células animales la vía para la formación de putrescina es a partir de ornitina. En bacterias, hongos y plantas superiores existen dos vías; una a partir de ornitina y otra a través de agmatina, ambas derivan de la L-arginina, (27, 28).

La espermina y la espermidina también se presentan conjugadas en una variedad de alcaloides vegetales en ciertas plantas virulentas. La espermina se encuentra en pitecolobina de *Samanea saman* Merr y homalina, y la espermidina forma parte de la lunarina y palustrina de *Equisetum* spp., *Lunarina annua* L., y *L. rediniwa* L., (82, 84).

Se ha demostrado que las poliaminas en plantas promueven la síntesis de proteínas, funcionan como factores de crecimiento, (26, 33, 94), favorecen la división celular, la diferenciación tisular, (36), permite la adaptación al stress, (40), y la respuesta tisular a hormonas, (10, 32, 41) y a la luz, además de retrasar el envejecimiento en distintos niveles de la planta, (66), por lo que se cree que el papel de las poliaminas en las células vegetales es de mensajero celular, (99).

Investigaciones recientes indican que las poliaminas actúan como reguladores en tejidos vegetales que son sometidos a condiciones adversas como el calor, salinidad, heridas, etc, (29).

La tabla I presenta la estructura de diferentes poliaminas.

TABLA I

ESTRUCTURA DE DIFERENTES FOLIAMINAS

AMINA	ESTRUCTURA
- 1,3-Diaminopropano.....	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
- Putrescina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
- Cadaverina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$
- Agmatina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2$
- N-Carbamilputrescina.....	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}-\underset{\text{O}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2$
- 3,3'-Diaminodipropilamina (Sim-nor-espermidina)	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
- Espermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
- Homoespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
- Aminopropilcadaverina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{-NH}(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$
- N,N'-bis-Aminopropil-1,3-propanodiamina (Sim-nor-Espermina)	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$
- Termoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$
- Arcaina	$\text{NH}_2-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2$
- Espermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
- Hirudonina	$\text{NH}_2-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2$
- Galegina	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{matrix} > \text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2$
- Esferofisina	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{matrix} > \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4\text{NH}-\underset{\text{NH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2$

1.2 HISTORIA

La historia de estos compuestos se remonta a la época de Antonio Van Leewenhoek (1678) quien descubrió sus cristales al hacer observaciones en el semen humano, (28).

La composición de estos cristales fué estudiada por otros investigadores: L. N. Vauquelin (1791) y A. Boettcher (1865), sin embargo fué hasta 1878 que P. Schreiner los identificó como sales de fosfato de espermina.

El nombre de espermina fué propuesto por A. Landenburg y J. Abel en 1888, debido a que se encontraron en altas concentraciones en el semen humano, (81), sin embargo fué hasta 1924 cuando finalmente se determinó su estructura por Otto Rosenhein.

A partir de 1948 las poliaminas adquieren importancia ya que se descubren nuevas funciones que conducen a presentar un modelo estructural en el cual se muestra la interacción de la espermina con la doble hélice del DNA, (24). La tabla II muestra la cronología en las investigaciones en poliaminas.

Hasta 1970 los estudios incluyeron sistemas "in vitro", presencia en virus, organelos, efectos sobre ácidos nucleicos y enzimas. Actualmente se están realizando estu

TABLA II

CRONOLOGIA EN LA INVESTIGACION DE POLIAMINAS

CIENTIFICO	DESCUBRIMIENTO	AÑO
- Leewenhoek	Descubrimiento del fosfato de espermina.	1678
- Rosenhein	Estrucutra y síntesis de la espermina. Descubrimiento de espermidina.	1924
- Herbst y Snell	Importancia en el crecimiento.	1948
- Cantoni	Descubrimiento de S-adenosilmetio nina.	1952
- Rosenthal y Tabor y col.	Biosíntesis de espermina.	1957
- Hershey	Descubrimiento de poliaminas en fagos.	1957
- Tsuboi	Interacción de la espermina con la doble hélice del DNA	1964

dios sobre la química, presencia y aspectos bioquímicos de las poliaminas en las plantas y en el control de la embriogénesis de diversas especies de mamíferos por éstos compuestos, (61).

1.3 PRESENCIA Y SU DISTRIBUCION EN LA NATURALEZA

Las poliaminas espermina, espermidina y putrescina están ampliamente distribuidas en animales, plantas y microorganismos, al igual que en fluidos biológicos.

En las plantas superiores la espermina, espermidina y putrescina se encuentran en hojas, raíces y frutos, también se han observado altas concentraciones en células embrionarias de cereales tales como cebada (*Hordeum vulgare*), arroz (*Oryza sativa* L.), avena (*Avena sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.), (82).

En la planta del trigo se ha detectado espermina y espermidina a excepción de la raíz, siendo el polen rico en espermidina pero pobre en espermina. En el tabaco (*Nicotianas*) se han detectado las tres poliaminas, siendo la espermidina la más abundante con 300nM/g, le sigue la putrescina con 150 nM/g y por último la espermina con 100 nM/g en peso húmedo, acumulándose en a puntas

de las hojas, raíz y tallo, (34, 58, 82, 84, 97).

Además se han encontrado que los niveles de poliaminas aumentan (5 - 20 veces) en plantas que crecen en condiciones deficientes de potasio como ha sido establecido en Solanaceas, Gramíneas, Leguminosas, Rutaceas y Rosáceas. Un 30% de aumento en la concentración de putrescina reestablece el pH intracelular. La tabla III muestra el contenido de putrescina, espermidina y espermina en hojas de plantas que crecieron en condiciones normales y con deficiencia de potasio, (7, 81, 82, 84).

Las poliaminas están compartamentalizadas en diferentes tejidos a lo largo de la planta ya que altas concentraciones se han localizado en vacuolas, en la fracción soluble del citoplasma de plantas de chícharos, en orgánulos como cloroplastos de espinacas y en mitocondrias en general. La espermina y la espermidina han sido detectadas en tubérculos de *Helianthus tuberosus* L., en embriones de cereales y juntas con putrescina en el jugo de alcachofas y de tomate, (15, 61, 62, 84, 96).

También se han encontrado en hojas de *Chlorella*, tomate, coliflor china y en semillas de gimnospermas y angiospermas, predominando en éstas últimas. Altas concentraciones

de espermina se encontraron en las semillas de *Phaseolus vulgaris* L., (1.5 μ moles/g peso seco), en cambio en semillas de *Cucumis melo* predomino la espermidina, (2.6 μ moles/g peso seco), (82, 84).

La sim-homoespermidina se ha encontrado en las hojas del árbol de sándalo y en el tejido de Japanese rojo newt *pyrrhogaster*, pero no en el reino animal, (44).

La tabla IV muestra la presencia de las principales poliaminas en la naturaleza y su distribución.

PRESENCIA Y DISTRIBUCION DE POLIAMINAS

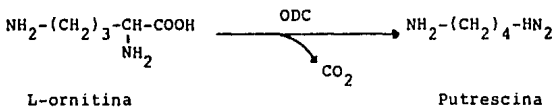
AMINA	PRESENCIA Y DISTRIBUCION
- 1,3-Diaminopropano	Restringida. Hojas de trigo, (<i>Triticum</i>). Hojas de cebada y semillas de chícharo.
- Putrescina	Abundante. Algas y plantas superiores como el tomate.
- Cadaverina	Restringida. Semillas de gramíneas y leguminosas, (<i>Pisum</i> , <i>Glycine</i> , <i>Vicia</i>).
- Agmatina	Abundante. Caña de azúcar y semillas de ricino, (<i>Ricinus</i>).
- N-Carbamilputrescina	Hojas de ajonjolí, (<i>Sesamum</i>) deficien- tes en potasio.
- 3,3'-Diaminodipropilamina	Nabo amarillo
- Espermidina	Abundante. Trigo. polen de <i>Petunia</i> <i>hybrida</i> , tubérculos (<i>Helianthus tube-</i> <i>rosus</i>), y semillas (<i>Cucumis melo</i> L.).
- Espermina	Abundante. Trigo, tubérculos (<i>Helian-</i> <i>thus tuberosus</i>), y semillas (<i>Phaseolus</i> <i>vulgaris</i> L.).
- Arcaina	Semillas (<i>Luffa cylindrica</i>).
- Galegina	Hojas y frutos de leguminosas, (<i>Galega</i>).
- Esferofisina	<i>Sphaerophysa</i> .

BIOSINTESIS, REGULACION E INHIBICION DE POLIAMINAS

2.1 BIOSINTESIS.

Se han descrito dos caminos metabólicos para la biosíntesis de putrescina, precursor de la biosíntesis de espermidina y espermina, (6, 62, 81, 99), como ha sido demostrado para *Helianthus tuberosus*, (87).

La primera vía metabólica es la descarboxilación directa de la L-ornitina para dar putrescina, (6, 45, 49, 61, 62, 81, 95).



Esta reacción es catalizada por la ornitina descarboxilasa (ODC) que a su vez es dependiente del fosfato de piridoxal, y que parece ser el paso limitante en la síntesis de poliaminas.

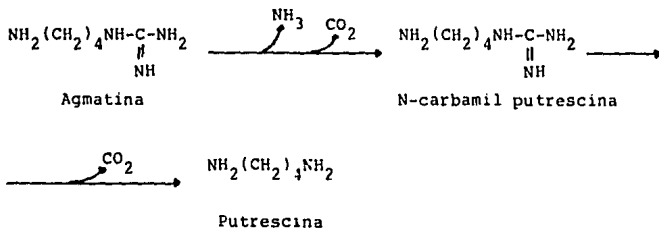
La segunda vía metabólica es a partir de la L-arginina y tiene como intermediario a la agmatina, (47, 99). El

descubrimiento de agmatina en hojas de cebada deficientes de potasio sugiere que el paso principal es la decarboxilación de la arginina por la acción de la arginina descarboxilasa (ADC) para la formación posterior de putrescina, (4, 18, 87) a la cual se puede llegar por dos caminos, (45, 81, 82).

El primero implica la eliminación de urea para dar putrescina directamente:



La otra alternativa es que la agmatina pierda amoniaco para dar N-carbamil putrescina la cual es hidrolizada a putrescina por la acción de la N-carbamil putrescina amidohidrolasa.



Ambos caminos estan representados en la figura 1.

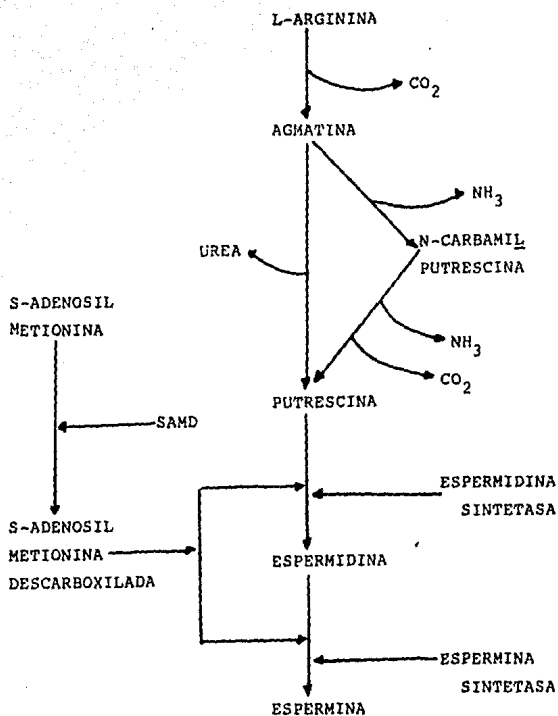


Fig. 1 Biosíntesis de poliaminas a partir de L-argini
na, (61, 81).

La biosíntesis de espermidina a partir de putrescina y de espermina a partir de espermidina requiere como cofactor a la S-adenosil homocisteamina, (forma descarboxilada de SAM), cuya producción es baja y constituye el factor limitante en la formación de espermidina. Fig. 1, ambas reacciones son catalizadas por sus correspondientes sintetetasas de las cuales se desconoce si utilizan cofactores, (45, 69).

La acumulación de putrescina y agmatina en plantas superiores que crecen en condiciones deficientes de potasio es un fenómeno común llegando a constituir la putrescina el 10% del nitrógeno total lo que ha sido demostrado en estudios realizados con hojas de cebada en donde la putrescina se incrementa 5 veces y la agmatina 10 veces, (30, 62, 72, 81, 82).

La producción de putrescina en respuesta a la deficiencia de potasio es un mecanismo homeostático que responde a la disminución del pH intracelular.

La deficiencia de potasio hace que el citoplasma se vuelva ácido y consecuentemente se estimula la producción de la enzima involucrada en la síntesis de putrescina que por su naturaleza básica tiende a reestablecer el pH,

(62, 81, 82).

La actividad incrementada (2-3 veces) de estas enzimas, así como las concentraciones de agmatina y putrescina son características de la deficiencia de potasio ya que los cambios observados en plantas de *Sesamum indicum* y en células de caña de azúcar, además de las hojas de cebada con deficiencia de iones magnesio, calcio, azufre y fósforo son relativamente pequeños, (62, 82).

2.2 REGULACION.

Los niveles de poliaminas biosintetizados a partir de la ODC y ADC son regulados por la inhibición con el producto final o por la aplicación de inhibidores exógenos, (46).

Los cambios dramáticos en la actividad de las descarboxilasas bajo una variedad de estímulos sugiere que estas enzimas son el paso limitante en la formación de poliaminas, y por lo tanto, determinan los niveles de estas, (49).

La vida media de la ODC, ADC, SAMD y espermidina N'acetil transferasa, parece ser la clave en la regulación de poliaminas, principalmente de putrescina, ocurriendo

la estabilización con inhibidores competitivos, (69).

La putrescina, espermina y espermidina a altas concentraciones inhiben a la ODC, (20, 32), siendo este mecanismo muy complejo y aún no bien estudiado. La adición de putrescina y espermidina exógena inhibe la descarboxilación de ornitina y arginina, (13), llegando a inhibir la acción de la ADC hasta en un 80%, el valor puede variar con las concentraciones de arginina y iones magnesio, (19).

La actividad de la ODC se incrementa produciendo un aumento en la concentración intracelular de putrescina. La actividad de la SAMD al principio es insuficiente para producir una gran cantidad de grupos aminopropilo que interaccionen con la putrescina evitando que la concentración de éste no aumente. Bajo condiciones de baja actividad de ODC, se puede limitar el porcentaje de síntesis de poliaminas siguiendo una estimulación de SAMD, la cual también posee una vida media corta y su actividad esta sujeta a fluctuaciones, (49, 60).

Una producción de SAMD baja va a constituir el factor limitante en la formación de espermidina.

Las reacciones de espermina y espermidina sintetasa son

irreversibles pero existe un mecanismo de interconversión que puede ocurrir "in vivo" y que regula los niveles de poliaminas convirtiendo la espermina en espermidina y ésta en putrescina. Esta interconversión se realiza por acetiltransferasas y poliaminas oxidasas, teniendo como paso limitante la acetilación, ya que se necesita de aldehídos activadores para que se lleve a cabo, Fig. 2.

La reacción es inducida por la exposición a agentes tóxicos que aumenta la conversión de espermidina a putrescina y de espermina a espermidina, pero el proceso también es inducido por exceso de espermidina, factor de importancia fisiológica para prevenir los niveles excedentes de espermina y espermidina, siendo uno de los principales procesos en la regulación de poliaminas, (69).

Este proceso se ha estudiado en plantas de cebada y maíz en las que los brotes se desprendieron cerca de la unión con el grano, logrando así una alta actividad enzimática, además se alimentaron con espermina exógena. En plántulas de *Helianthus tuberosus* se observó este mismo proceso, en donde la actividad enzimática máxima fué hallada en la orillas vasculares de las hojas, en raíces y mesocotiledones, (83).

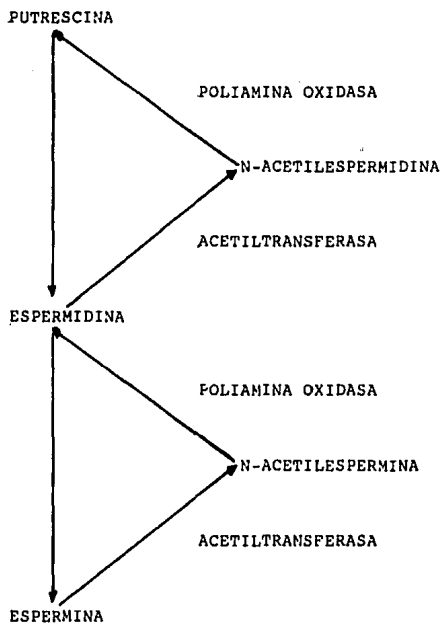


Fig. 2 Regulación de los niveles de poliaminas por interconversión, (69).

2.3 INHIBIDORES EN LA SINTESIS DE POLIAMINAS

Los inhibidores de la síntesis de poliaminas han contribuido a elucidar las funciones de éstas, y el papel que juegan en la fisiología celular, además de que estos compuestos también proveen información sobre la naturaleza de la enzimas involucradas en el metabolismo de las poliaminas y mecanismos de su regulación, (1, 50).

Existen muchas sustancias que inhiben a las enzimas responsables de la biosíntesis de poliaminas, siendo las mas importantes las que inhiben a las ODC, ADC y SAMD, (2), los estudios se han realizado marcando a las sustancias con ^{14}C .

La mayor parte de los inhibidores se han desarrollado para la ODC, ésta inhibición no es fácil de estudiar porque la vida media de la ODC es muy corta (10-20 min) y permite un rápido cambio en su estabilidad en presencia de un estímulo, (45, 50).

La ODC está sujeta a inhibición irreversible del tipo suicida por análogos fluorados y acetilados de la ornitina o sustrato, como ejemplo están la α -difluorometil ornitina, (α -DFMO) y α -etil ornitina, (19). La α -metil

ornitina, (α -MO) inhibe competitivamente a la ODC, con especificidad y se une covalentemente, (69) disminuyendo así la acumulación de putrescina y espermidina, (60, 65).

Los análogos de la arginina como la α -difluorometilarginina (α -DFMA) y α -metilarginina (α -MA), se unen irreversiblemente y bloquean la actividad enzimática de ADC tanto "in vivo" como "in vitro", (17).

Con inhibidores irreversibles como la α -DFMO y α -DFMA, la alta velocidad de síntesis de enzimas nuevas hace necesario mantener los altos niveles en la concentración de la sustancia inhibidora para mantener el efecto, de lo contrario se recupera la actividad enzimática muy fácilmente, (45).

A pesar de ser la α -DFMO un potente inhibidor de ODC en tejidos animales la inhibición no es completa (63%) a 5 mM y a bajas concentraciones de 0.1 a 1 mM no tiene efecto, en cambio en raíces de frijol una concentración de 1 mM inhibe la actividad de la ODC en un 69%, pero a su vez aumenta la actividad de la ADC, (17), la inhibición es mas completa usando la α -DFMO junto con la α -DFMA, como se puede apreciar en la figura 3.

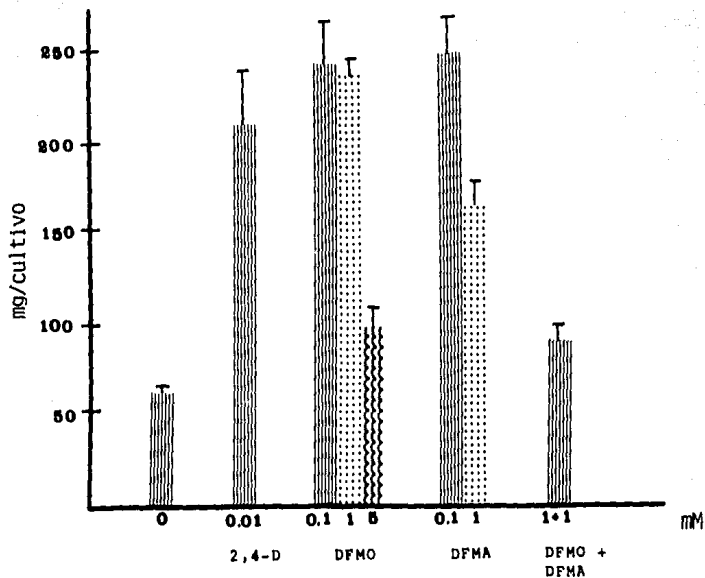


Fig. 3 Efecto de varios inhibidores en el crecimiento de plántulas de *Helianthus tuberosus* cultivadas en agar, al cual se adicionó 2,4-D en todos los casos excepto en el caso (0), (17).

La Metilgloxal bis (guanilhidrazona) (MGBG) inhibe a la S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMD) y puede causar la estabilización de la proteína; y la formación de la antienzima ODC que sigue una relación inversa intracelular con la ODC es por tanto afectada por los niveles de ODC y la concentración de putrescina; al ser su estructura muy parecida a las poliaminas y usar el mismo transporte es difícil demostrar sus efectos, (22, 49, 71). Se usa para inhibir la síntesis de poliaminas "in vivo", su acción es revertida por putrescina y altas concentraciones de espermidina, la cual desaloja al MGBG de los sitios activos intracelulares o interfiere en su transporte. Una rápida adición de putrescina reduce la acumulación de SAMD, (69), siendo la ADC regulada por los efectos contrarios de putrescina y espermidina, (49). La inhibición de SAMD por MGBG bloquea la síntesis de espermidina y espermina, como se ha observado en las capas de aleurona de las semillas de cebada. (55), pero su uso es complicado por la continua acumulación de putrescina, (65).

La aplicación de MGBG en tratamientos prolongados fué ineficaz porque el tejido va adquiriendo resistencia, (16), por lo que los inhibidores más efectivos son los que se unen irreversiblemente como la α -DFMO.

La figura 4 muestra el efecto inhibitor de MGBG $40 \mu\text{M}$ sobre el crecimiento tubular de *Helianthus tuberosus*, activado en un medio conteniendo $10 \mu\text{M}$ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), se nota el rápido descenso de espermina y espermidina durante la primera fase del ciclo celular, (16).

El S-adenosil-1,8-diamino-3-tiooctano (adoDATO) inhibe fuertemente a la espermidina y se usa para reducir la actividad de la espermina sintetasa "in vivo", (69).

La explicación de que *Helianthus tuberosus* crece a pesar de la aplicación de un inhibidor es que ambas enzimas biosintéticas, (ADC y ODC) de putrescina están activas en el tejido y es posible que la inhibición de una active a la otra, esto se evita combinando dos inhibidores (α -DFMO y α -DFMA) para bloquear así ambos caminos para la putrescina. Otra razón del crecimiento de *Helianthus tuberosus* es la presencia de una gran cantidad de arginina endógena y glutamina, ambos precursores de putrescina en el final de la latencia, los cuales pueden contrarrestar el efecto de los inhibidores y hacerlos ineficaces. En estado latente la actividad de la ADC es superior (7-8 veces) a la de ODC la cual después de 6 horas de activado comienza a aumen-

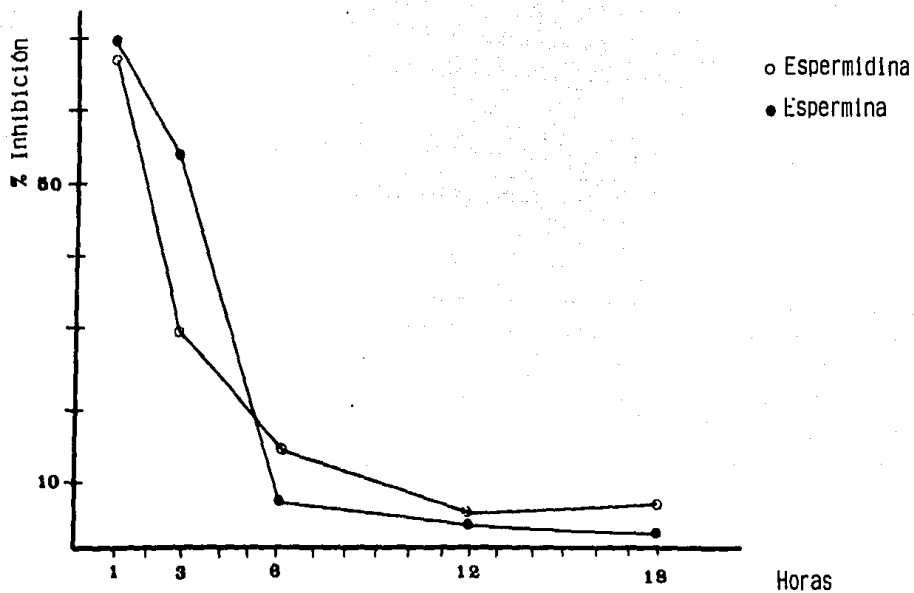


Fig. 4 Inhibición de espermidina y espermina por $40 \mu\text{M}$ de MGBG en *Helianthus tuberosus*, (16).

tar al igual que la SAMD debido a la división celular, este incremento es similar al observado en los sistemas animales, (17).

La canavanina y la canalina inhiben a sus análogos arginina y ornitina respectivamente, inhibiendo el crecimiento en un 100 % y no son reversibles, además una concentración de 1 nM bloquea completamente la división celular. La canavanina puede competir con la arginina e inhibir las enzimas del metabolismo de ésta, sus efectos se han comprobado en la formación de raíces, germinación de semillas y en tejidos vegetales en cultivo, (16). La figura 5 muestra los efectos de MGBG, Dap, Canavanina y canalina en el crecimiento de *Helianthus tuberosus*.

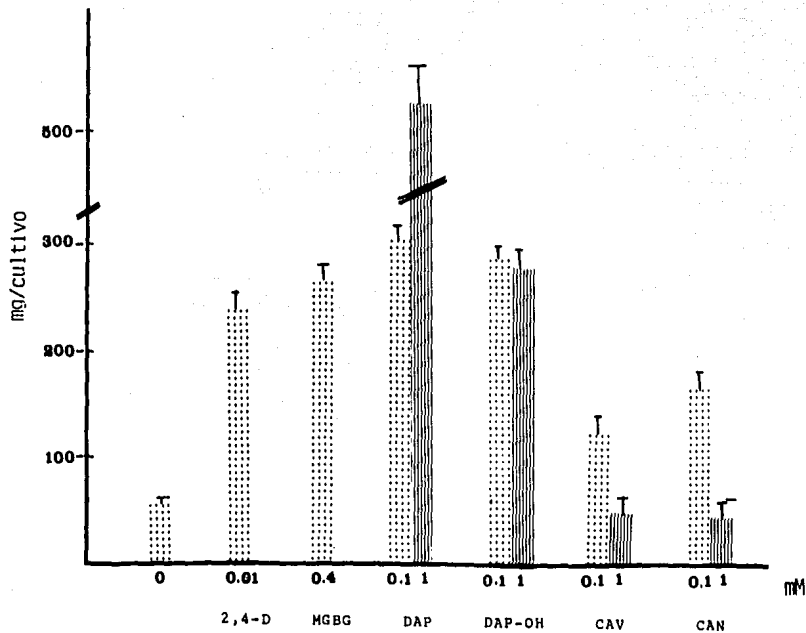


Fig. 5 Efecto de varios inhibidores en el crecimiento de plántulas de *Helianthus tuberosus* cultivadas en agar, al cual se le adicionó 2,4-D en todos los casos excepto en el caso (0), (16).

CATABOLISMO DE POLIAMINAS

Los niveles intracelulares de poliaminas pueden ser regulados principalmente por procesos anabólicos pero también se involucran los procesos catabólicos, los cuales convierten las poliaminas superiores en sus inferiores respectivas, (45).

La inhibición es un proceso que solo va a detener la síntesis de poliaminas, pero no reduce su concentración intracelular, a diferencia de los procesos catabólicos que es una manera de reducir los niveles intracelulares.

La acetilación y subsecuente oxidación puede ser considerada como el mejor destino catabólico para las poliaminas en los sistemas vivos, son reacciones metabólicas vitales que están íntimamente relacionadas con las funciones de las poliaminas, (21).

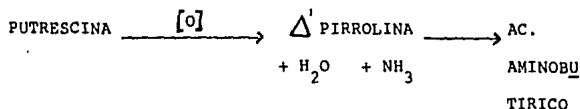
El significado biológico de la acetilación no se conoce pero se ha propuesto que puede ser un paso requerido para el catabolismo y excreción de poliaminas intracelulares.

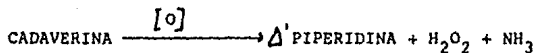
Se sabe que las poliaminas pueden ser convertidas en

mono y diacetil derivados, (6, 49). La monoacetilación incrementa considerablemente la afinidad de las poliaminas por la poliamina oxidasa, ésto sugiere que los acetil derivados son sustratos naturales de las poliaminas oxidadas, la espermina y la espermidina compiten por el sitio activo con los acetil derivados y ésto depende de la concentración de los compuestos acetilados libres, los cuales son preferentemente degradados, (21). Una reacción de acetilación-desacetilación en el ciclo celular puede también ser un modo de regular las actividades fisiológicas de las poliaminas a través de alteraciones en sus propiedades catiónicas porque la acetilación es una reacción adecuada para remover parcialmente las cargas positivas y lograr así un cambio en las características de unión de éstos compuestos con los sitios aniónicos, (21, 49).

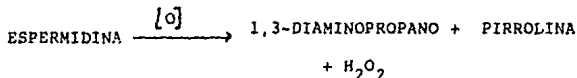
El principal camino en las plantas superiores es la oxidación por poliaminas oxidadas. Estas enzimas oxidan a las diaminas para convertirlas en los correspondientes compuestos heterocíclicos.

La oxidación de putrescina y cadaverina siguen el siguiente camino, (6):

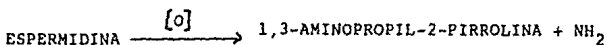




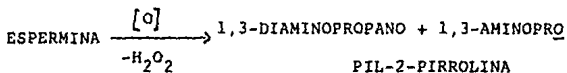
La oxidación de espermidina por diamino oxidasa puede ser, (81, 84):



o la oxidación en el grupo amino primario dando amoniacó, (82):



La oxidación de espermina da los siguientes productos, (62, 84):



Siendo sus productos de oxidación enzimática y química idénticos, (31).

En las reacciones anteriores la posición de la doble ligadura en el anillo pirrólico puede estar en la posición 2 ó 3, (62, 83).

Las poliaminas oxidasas han sido parcialmente purificadas y caracterizadas del tabaco, soya, frijol y arroz, (63), la tabla V muestra algunas propiedades de las po-

liaminas oxidasas mas estudiadas como son las de avena, cebada y maíz, (80).

En plantas superiores como la avena, cebada y maíz, se ha demostrado que la enzima está normalmente en la pared celular y es particularmente activa en tejidos vasculares, (80, 83).

La poliamina oxidasa especifica encontrada en hojas de cebada y maíz, oxida a la espermina a un pH óptimo de 4.5, en cambio la espermidina y 3,3-diaminopropano son oxidadas más lentamente a un pH óptimo de 7.0 ,(62, 83).

En estudios realizados con plantas de chícharo, la espermina es oxidada alrededor de 0.4 % en proporción con la putrescina mientras que la espermidina es oxidada hasta un 35 % en proporción con la putrescina.

La máxima actividad en preparaciones de diamino oxidasas son las obtenidas del chícharo y ha sido esta enzima la más sujeta a estudio. Las semillas en estado latente no tienen actividad de amino oxidasas, ésta aparece en los días 3-4 después de la germinación alcanzando el máximo de 6 a 12 días, y disminuyendo casi a cero en los días 30 - 40. La actividad se presenta casi

TABLA V

COMPARACION DE LAS PROPIEDADES DE POLIAMINAS
OXIDASAS EN SEMILLAS DE AVENA, CEBADA Y MAIZ.

PROPIEDAD	AVENA	CEBADA	MAIZ
- Peso molecular (daltones)	80 000	85 000	65 000
- Actividad relativa espermina & espermidina	1	14	0.7
- pH opt. espermidina	6.5	8.0	6.3
- pH opt. espermina	6.5	4.8	5.5
- Cofactores	-	-	FAD
- Actividad específica máxima (nkat/mg prot)	6 020	-	476

(80).

exclusivamente en los cotiledones y brotes, pero se encontraron cantidades pequeñas en los nódulos libres de las raíces, no se detectó en hojas maduras, en cambio en plantas viejas la actividad se localiza en los nódulos de las raíces y en los brotes.

Aparentemente la diamino oxidasa en plantas superiores es estimulada por fosfato de piridoxal, por lo tanto se sugiere que la actividad de la enzima en adición con el fosfato de piridoxal puede proporcionar protección contra la desnaturalización. En el chícharo y en el trebol las diamino oxidasas son estimuladas por FAD, (82).

Se ha establecido que las diamino oxidasas son inhibidas por homólogos de espermidina y por metales como el calcio y magnesio en el caso del arroz, y a su vez activadas por cloruros de litio, sodio, potasio y rubidio, (63, 80).

Se sabe que la diamino oxidasa en plantas (arroz), como otras aminooxidasas animales es una enzima que contiene cobre, el cual puede ser fácilmente removido por diálisis dejando a la enzima inactiva. La actividad de la apoenzima sólo puede ser establecida por la adición de iones cúpricos.

Las diamino oxidasas también proveen el camino biosintético para varios alcaloides, por ejemplo es posible la síntesis completa de anabasina a partir de cadaverina usando diamino oxidasa del chicharo.

De acuerdo a su especificidad las enzimas aminooxidasas pueden ser divididas en monoaminaoxidasas, cuya distribución es muy limitada; la diamino oxidasa que contiene cobre y es muy activa en leguminosas y la poliamina oxidasa encontrada en gramíneas, (82).

EFFECTO DE LAS POLIAMINAS SOBRE LA GERMINACION

Las poliaminas están recibiendo mucha atención en base a sus implicaciones en el control del metabolismo de ácidos nucleicos y síntesis de proteínas, (56, 100). Las poliaminas son capaces de regular los diferentes pasos en la duplicación del DNA, transcripción y traducción, debido a su unión con cationes orgánicos estabilizando y organizando a los ácidos nucleicos para favorecer así la síntesis de proteínas, (88), además es ya conocido que los ácidos nucleicos pueden interaccionar con las poliaminas las cuales están involucradas en diferentes eventos como el crecimiento, la diferenciación y división celulares, (74).

Estudios recientes indican que las poliaminas pueden actuar como moduladores de varios procesos celulares fisiológicos durante la germinación de las semillas ya que se ha comprobado que una gran cantidad de poliaminas están presentes en semillas de gimnospermas y angiospermas, (74).

Una semilla puede germinar o no dependiendo de circuns-

tancias internas (hormonas) y externas (luz, temperatura y humedad). En el inicio de la germinación:

a) Los genes de rRNA, tRNA y probablemente mRNA están activos.

b) Las enzimas involucradas en la biosíntesis de poliaminas están muy activas, (9).

Por lo tanto las proteínas y poliaminas son liberadas del cotiledon al medio durante la germinación, (88).

Se están realizando estudios que se centran en la posibilidad de cambio en la concentración de poliaminas durante las fases tempranas de la germinación, (100). Hay numerosos reportes de procesos metabólicos involucrados en la germinación de diferentes tipos de polen de *Tradescantia*, *Petunia*, *Malus domestica*, *Lilium* y *Nicotiana*. En contraste hay falta de información concerniente a polen de granos. La germinación de polen es un proceso complejo que involucra aspectos fisiológicos como la diferenciación del gameto y un reconocimiento célula-célula durante la fertilización. En la figura 6 se muestra los cambios de RNA, proteínas y poliaminas durante la germinación del polen de manzanas en donde la rehidratación es necesaria para una respuesta consistente de los granos de polen, (9, 88).

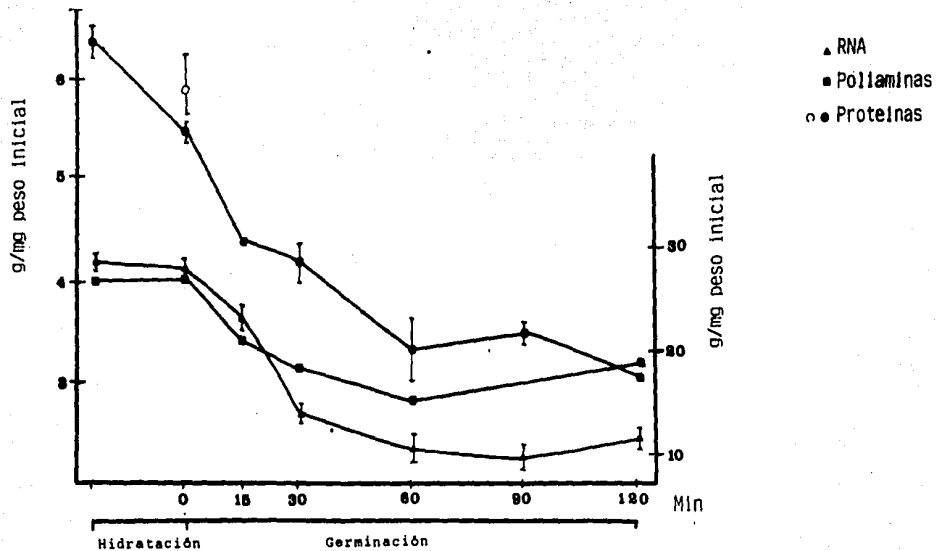


Fig. 6 Cambios en el RNA, proteínas y poliaminas libres durante la rehidratación y germinación de polen de manzana, (9).

La transición de la fase de la latencia a la germinación es caracterizada por un rápido aumento de la transcripción y traducción, siendo las poliaminas las que promueven ambos procesos, (9).

Las poliaminas están presentes en todas las fases del ciclo celular de la semilla, (74). Durante la fase G_1 , en los primeros 15 min hay un aumento en la síntesis de poliaminas y un decremento de arginina y glutamina, a los 30 min se sintetizan RNA y DNA, a las 2 hrs se inicia la fosforilación de poli(A)RNA, posteriormente, a las 3 hrs se presenta la acumulación de DNA y poli(A)RNA con la formación de nuevos polisomas, y por último la duplicación del DNA y la acumulación de poliaminas, observándose la máxima actividad de ODC. A las 18 hrs comienza la fase S con una nueva síntesis de putrescina y termina a las 24 hrs con la acumulación de poliaminas y la disminución en su biosíntesis. La fase M se inicia antes de que termina la fase S y concluye a la 30 hrs, terminando así el ciclo celular, (14, 15).

Las evidencias de que las semillas pueden crecer en agua en ausencia de nutrientes es por las reservas de poliaminas, (72, 100). La poza total de poliaminas cambia

durante la germinación como un resultado de su liberación (5%) en el medio de cultivo, (9), siendo los cotiledones los que proveen los aminoácidos precursores para la síntesis de cadaverina y putrescina, (56).

Una de las plantas más estudiada ha sido *Helianthus tuberosus* L. y es particularmente conveniente el usarla en el estudio del ciclo celular después de romper la fase de latencia porque todo el parénquima celular del tubo entra en la latencia en la fase G_1 , y son fácilmente inducidos a crecer, (76), además de que el tejido tubular contiene baja cantidad de poliaminas durante la latencia las cuales son rápidamente sintetizadas cuando las células tubulares se activan y entran a un nuevo ciclo celular. El estado de latencia en esta planta, es un factor que influye en la cantidad de poliaminas unidas a ácidos nucleicos. La concentración del complejo poliaminas-rRNA en parénquima medular no activados se incrementa entre Enero y Febrero, el tiempo cuando el tubo comienza a prepararse para germinar, al mismo tiempo el parénquima tiene la capacidad de responder por la actividad meristemática. La figura 7 muestra que la cantidad del complejo RNA-Poliaminas, se incrementa cuando las células, que estuvieron en la fase G_1 por varios meses, son activadas y entran a un nuevo ciclo celular,

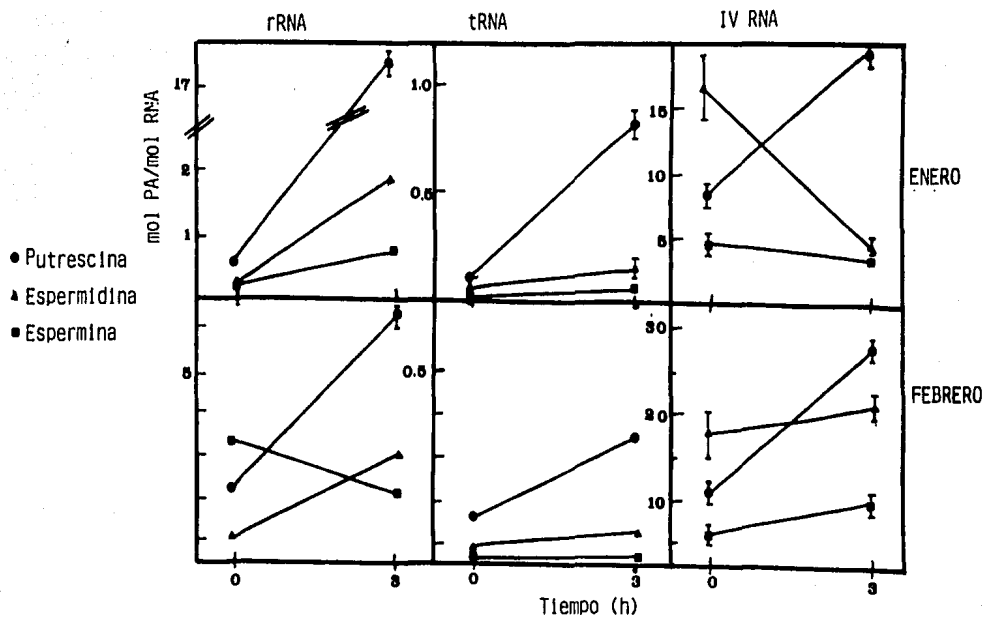


Fig. 7 Niveles de poliaminas en extractos de RNAs de *Helianthus tuberosus* a las 0 horas y después de 3 horas de activación, (78).

el "IV RNA" se obtuvo de los túbulos activados de *Helianthus tuberosus*, (78, 96).

La presencia de las enzimas responsable de la biosíntesis de putrescina en la fracción del RNA, sugiere que la putrescina puede ser sintetizada "in situ", (78). Cambios en el contenido de la actividad de esta enzima, está siendo demostrados en varias especies vegetales durante las fases tempranas de la germinación y subsecuente crecimiento, (56). La actividad específica de ADC se incrementa con el desarrollo de las semillas como se observó en el arroz, y la máxima actividad corresponde con el aumento de poliaminas, fig. 8, (74). Altos niveles de arginina libre fueron observados durante los primeros 15 min de fertilización probablemente debido a una demanda de este precursor, (9).

Durante la latencia en las células del parénquima en *Helianthus tuberosus* a las que se indujo a la germinación también se observó una gran cantidad de arginina y glutamina como respuesta para la síntesis de poliaminas, fig. 9, (76).

El ácido giberélico (GA_3), y el ácido β -indol-acético (IAA), dos hormonas de crecimiento, inducen hasta 4 ve-

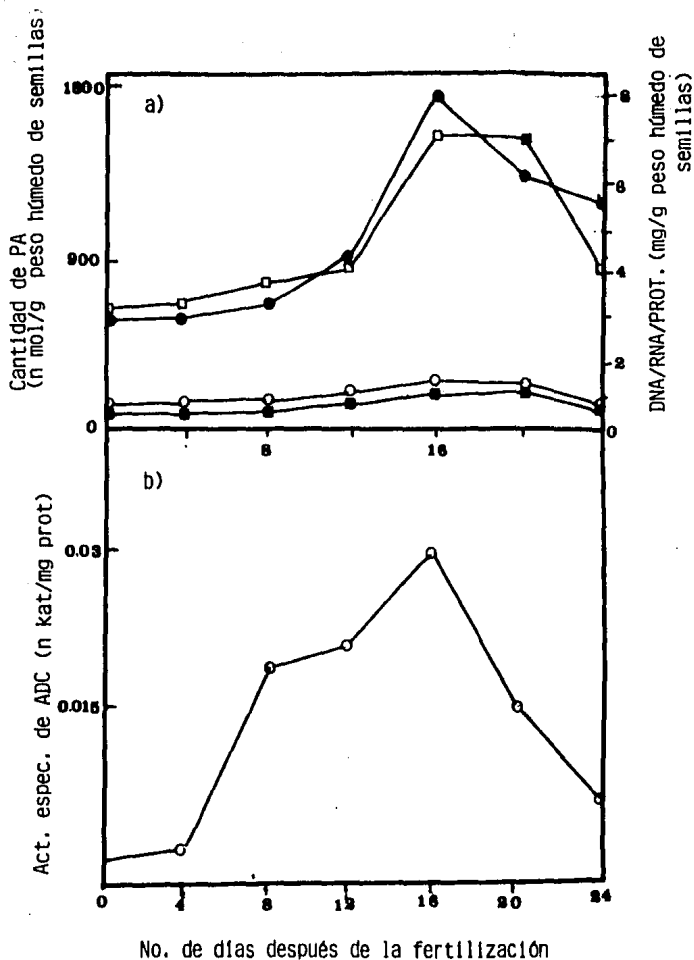


Fig. 8 a) Cambios en el total de poliaminas (●), RNA (■) DNA (○) y proteínas (□).
 b) Actividad de ADC (○) durante el desarrollo de la semilla de arroz, (74).

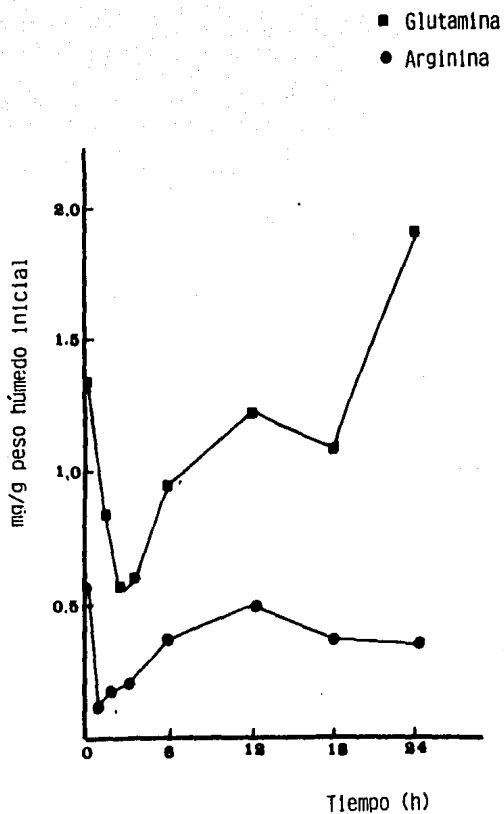


Fig. 9 Niveles de arginina y glutamina durante el primer ciclo celular de plántulas de *Helianthus tuberosus* (76).

ces la actividad de la ODC durante la germinación de se millas de cebada (*Hordeum vulgare* L.). Las figuras 10 y 11 muestran estos datos, mientras que la actividad de ADC sólo es inducida por GA₃. La concentración óptima fué de 10⁻⁵M para GA₃ y 10⁻³M para IAA, en cambio cuando una poliamina como la putrescina o espermidina es adicionada a una concentración de 10⁻³M la actividad de ODC es inhibida. Una adición simultánea de poliaminas y GA₃ se puede usar para dirigir el control en los niveles de poliaminas endógenas. Parece posible que las poliaminas y las hormonas de crecimiento compiten por el mismo sitio celular, los cuales están influenciados por el contenido de poliaminas extracelulares que pueden regular los niveles en la actividad de ODC y por lo tanto los niveles intracelulares de poliaminas, (54).

Se sabe que la síntesis de poliaminas libres ocurre en las células del parénquima medular durante el período natural de liberación de la latencia, en *Helianthus t_u*berosus, (78). La síntesis y acumulación de cadaverina y putrescina en las semillas de soya cv. Williams, ocurre en los axones embrionarios durante el inicio de la germinación y crecimiento. Comparando las poliaminas en los axones embrionarios durante el desarrollo de la se milla y germinación, (fig. 12) se muestra que el porcen

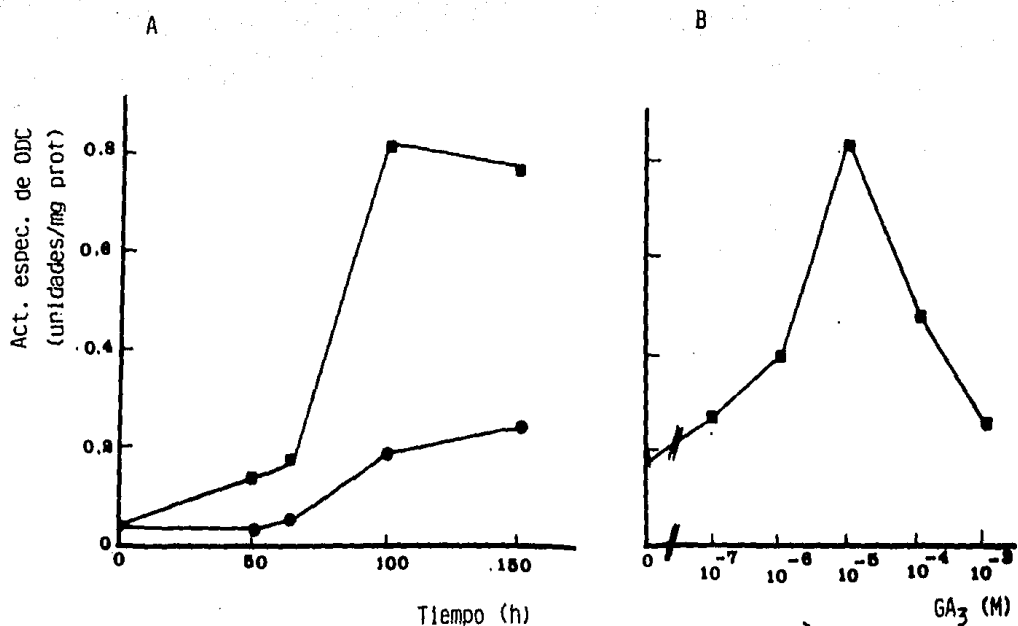


Fig. 10 A. Efecto de GA₃ en la actividad de ODC durante la germinación de semillas de cebada, ●, control ■, GA₃ 10⁻⁵ M.
 B, Respuesta al efecto de GA₃ en la estimulación de la actividad de ODC en semillas de cebada germinando, (54).

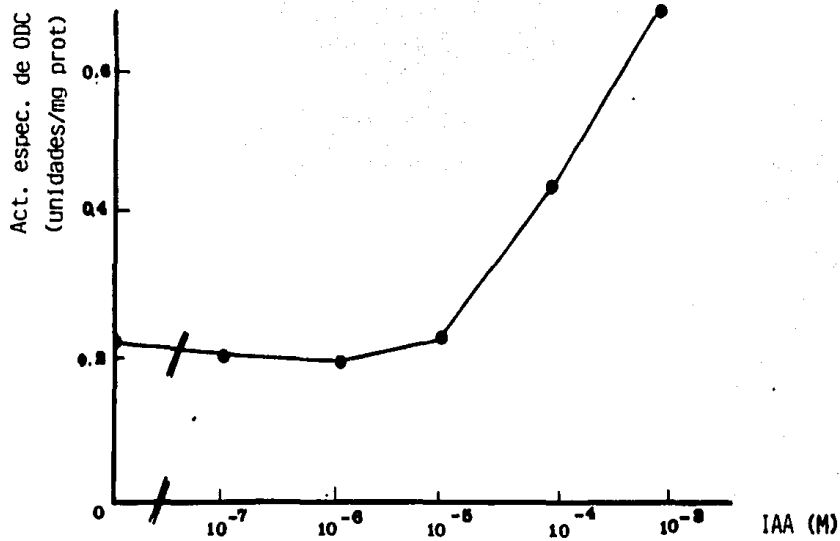


Fig. 11 Efecto del ácido β -Indolacético en la actividad de ODC durante la germinación de semillas de cebada, (54).

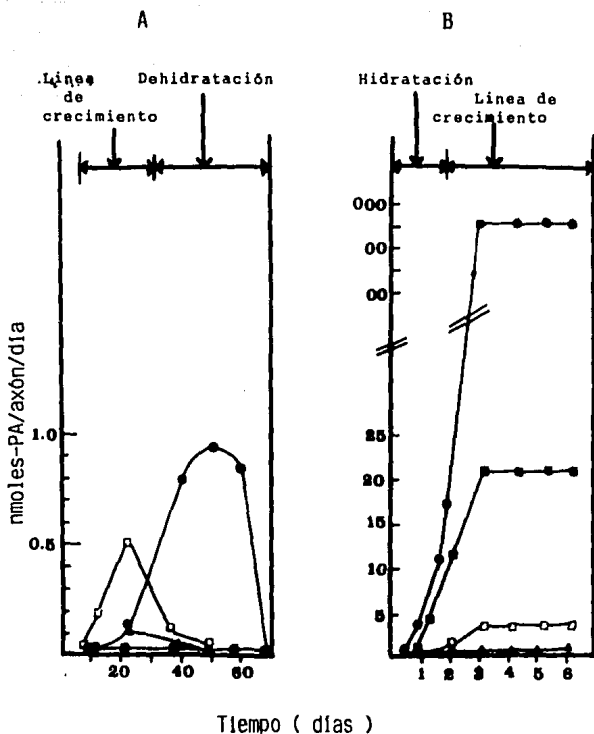


Fig. 12 Cambios cinéticos en el contenido de poliaminas en axones embrionarios de semillas de soya durante la maduración y germinación.
 A. Cambio en el contenido de PA por axón por día
 B. Cambio en el contenido de PA por axón por día con imbibición en la oscuridad.

Cadaverina (●), Putrescina (■), Espermidina (□),
 Espermina (▲). (56).

taje de síntesis de poliaminas y la acumulación es acelerado con la hidratación y germinación, por lo tanto se incrementa conforme progresa el crecimiento de los axones acumulando aproximadamente 1 mg de N_2 /axón día, durante los primeros días de imbibición sin suplementación exógena de nutrientes, la biosíntesis activa de poliaminas ocurre en los axones embrionarios pero no en los cotiledones (Fig. 13) durante la germinación de la soya y subsecuente crecimiento de la semilla joven, (56).

La biosíntesis de poliaminas y RNA precede a la germinación y conforme pasa el tiempo la cantidad total de proteínas, RNA y poliaminas exhiben un decremento como se observó en la figura 6. La figura 8 muestra los mismos cambios en la fertilización de la semilla de arroz, el aumento total de poliaminas, esta asociado con el aumento de RNA (3 veces), DNA (2.5 veces) y proteínas (3 veces). Cuando la semilla se acerca a la madurez los niveles anteriores declinan. Dentro de las primeras 24 horas de la germinación un aumento en el total de poliaminas es observado, (fig. 14), siendo la putrescina y la espermina de 14 veces, cadaverina 25 veces, agmatina 24 veces y espermidina 4 veces, (74). Un mes antes de la germinación del trigo la espermina se incre

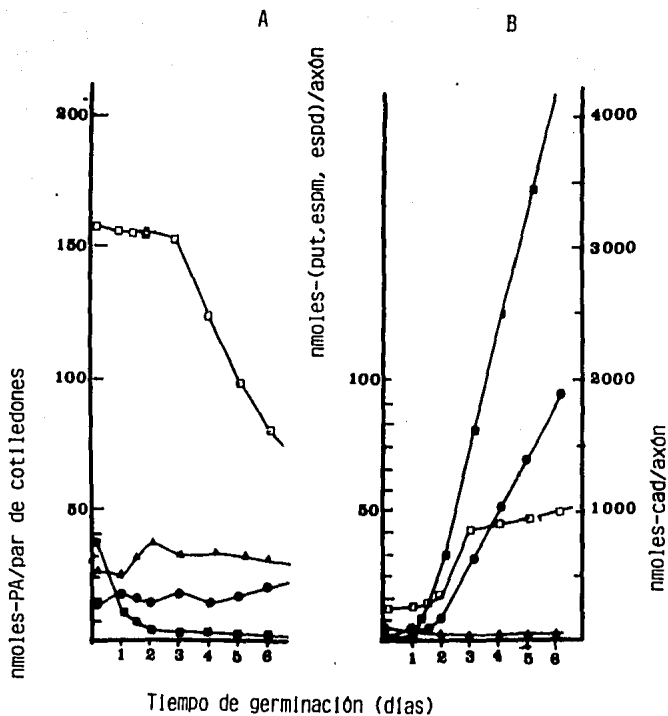


Fig. 13 Cambios en el contenido de poliaminas en semillas de soja después de la imbibición en la obscuridad. A. Cambios en los cotiledones. B. Cambios en los axones.

Cadaverina (■), Putrescina (●), Espermidina (□), Espermina (▲). (56).

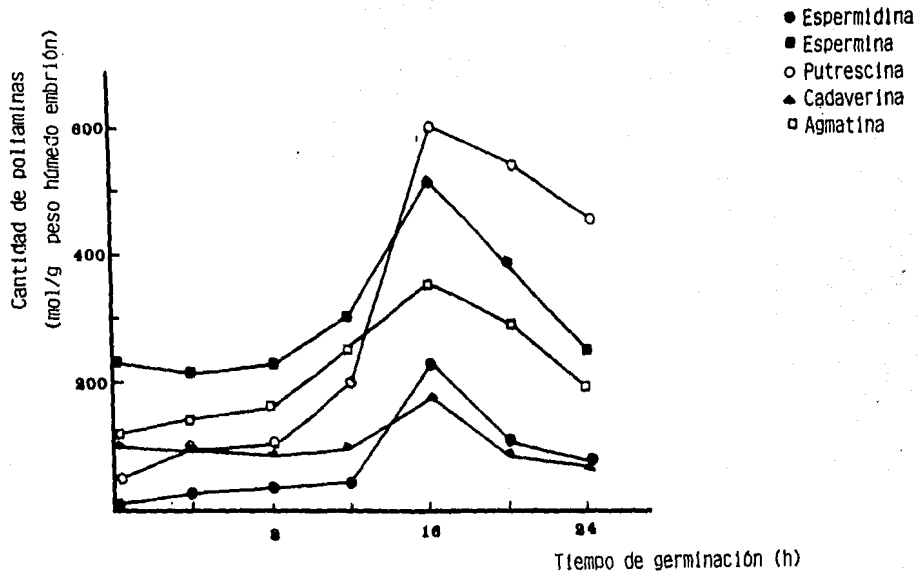
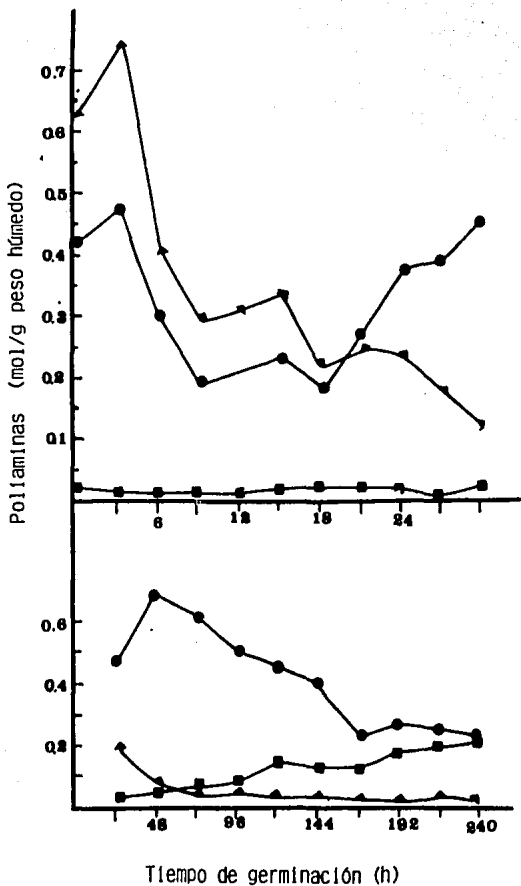


Fig. 14 Cambios en el contenido de poliaminas durante la germinación de embriones de arroz, (74).

menta 8 veces y la espermidina 5 veces, ésto sugiere que las poliaminas son sintetizadas en las partes vegetativas de la planta de trigo, (82). La fig. 15 muestra los cambios en *Phaseolus mungo* de las tres poliaminas, se incrementan inmediatamente después de que los granos de trigo han germinado y alcanzan el máximo a las 3 horas a excepción de la putrescina la cual se incrementa después de las 33 horas. En el caso de *Pisum sativum*, están presentes la putrescina, espermidina, espermina y cadaverina, siendo la espermidina la que está presente en cantidades mayores, fig. 16, (100). Durante la germinación de *Phaseolus vulgaris*, la concentración de espermidina y espermina disminuye en los cotiledones y simultaneamente se incrementa en la raíz, (82).

La putrescina, cadaverina, espermina y espermidina fueron identificadas en semillas de arroz, inicialmente el contenido de espermidina es pequeño pero aumenta dramáticamente a los 16 días de desarrollo (38 veces), el incremento de las demás poliaminas es menos marcado, este gran incremento puede ser debido a la conversión de espermina a espermidina, (fig. 17), (74). En el polen de manzana sólo se detectó putrescina, espermidina y espermina, (9).



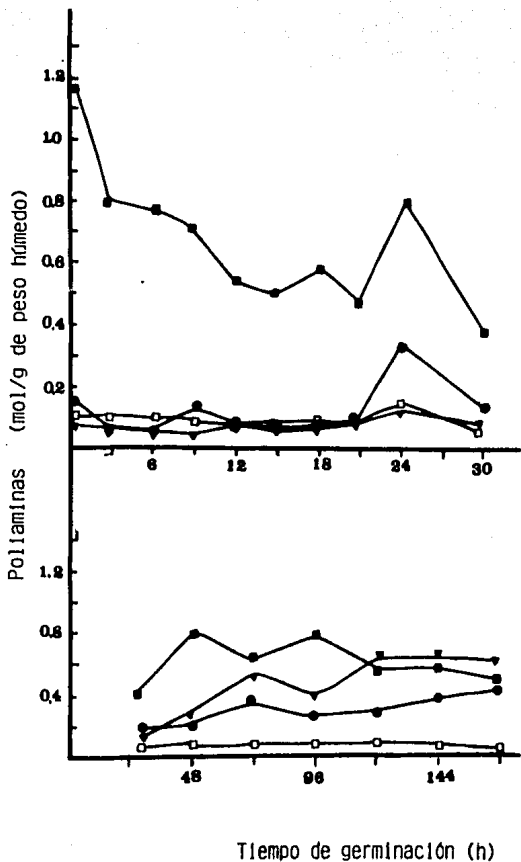


Fig. 16 Cambios en la concentración de diferentes PA durante la germinación de semillas de *Pisum sativum*. Espermina □ , Putrescina ▼ , Espermidina ■ , Cadaverina ● , (100).

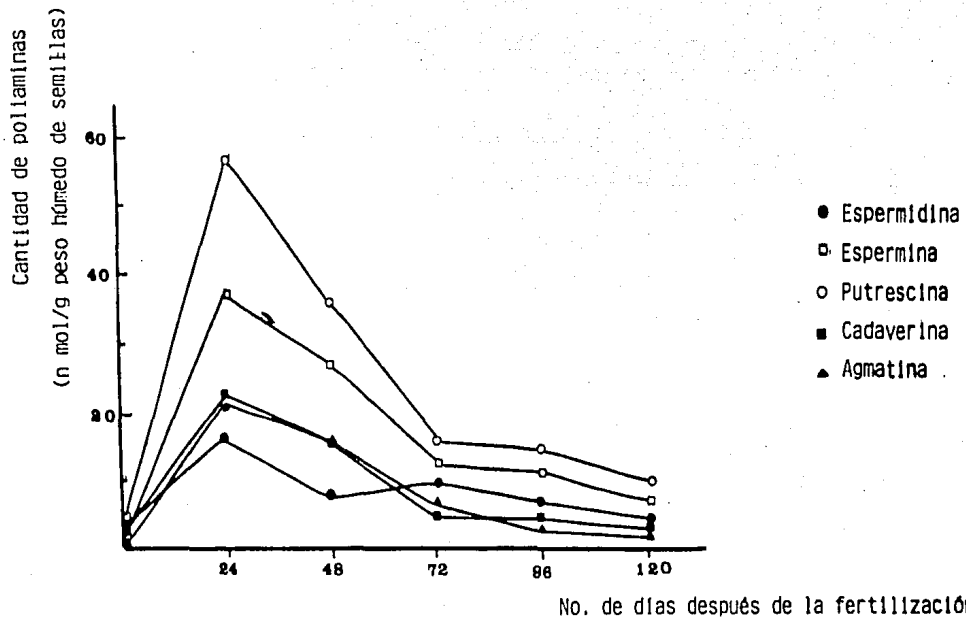


Fig. 17. Cambios en el contenido de poliaminas (PA) durante el desarrollo de semillas de arroz, (74).

El cambio en el contenido de poliaminas observado con *Phaseolus mungo* y *Pisum sativum* fué también encontrado durante la germinación de semillas de *Zea mays*, *Phaseolus vulgaris*, *Tragopogon porrifolius* y *triticum aestivum*, el resultado de los análisis muestra que el total de la concentración de poliaminas es observado entre 2-12 hrs predominando una poliamina en especial, por ejemplo: espermina en *Phaseolus mungo* y *vulgaris*, espermidina en *Zea mays*, *Tragopogon porrifolius*, *Triticum aestivum*, y espermidina y cadaverina en *Pisum sativum*, (100).

En plántulas de soya se han encontrado relaciones molares altas de espermidina:putrescina que están asociadas con las células que tienen altas actividades meristemáticas, fig. 18. El mismo fenómeno fué observado para *Zea mays* pero no para semillas de *Helianthus tuberosus* y *Triticum*, (56). La iluminación acelera la síntesis de ácidos nucleicos en plántulas de cebada durante la germinación, por lo tanto el incremento especialmente de poliaminas puede ser referido como un aumento en la síntesis de proteínas. En retoños que crecieron con luz/sombra las poliaminas se incrementaron en la punta. por otro lado los niveles de poliaminas en plantas que germinaron con luz durante 3 días (tabla VI) no difieren de aquellas plantas que germinaron en la obscuridad en

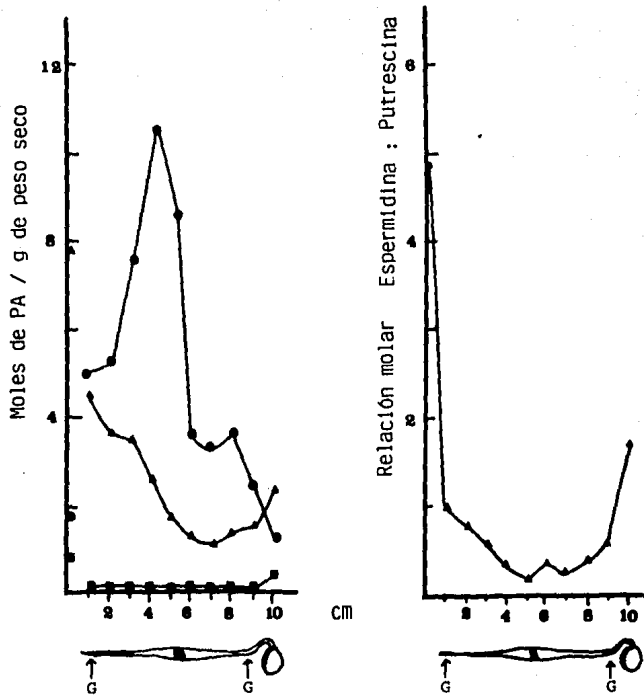


Fig 18 Contenido de poliaminas en los axones embrionarios de semillas de soya. G indica el punto de crecimiento. Putrescina ● , espermidina ▲ , espermina ■ , (56).

el mismo tiempo, (tabla VII), pero se observó que la cantidad de espermina es mucho mas baja que la de putrescina y espermidina tanto en brotes como en la raíz, (85).

TABLA VI

CONTENIDO DE POLIAMINAS EN EL CRECIMIENTO
DE SEMILLAS DE CEBADA CON 16 H DE LUZ

EDAD	TEJIDO	nmol/g peso húmedo			UNIDA- DES/G PESO HUMEDO*
		PUTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA	
3 días	bróte	1020	811	68	92
	raíz	586	228	5	n.d.
6 días	brote-máx.	1330	492	84	17
	med.	691	404	82	57
	inf.	484	421	28	25
	raíz	694	145	<5	17
12 días	hojas-máx.	2980	158	81	15
	med.	807	202	131	30
	inf.	505	320	96	39
	raíz	1700	217	<5	n.d.

* Número de unidades germinadas (brotes, raíces etc).

TABLA VII

CONTENIDO DE POLIAMINAS EN EL CRECIMIENTO
DE SEMILLAS DE CEBADA EN LA OSCURIDAD.

EDAD	TEJIDO	nmol/g peso húmedo			UNIDA- DES/G PESO HUMEDO*
		PUTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA	
3 días	brote	1180	941	58	92
	raíz	571	213	5	n.d.
6 días	brote-máx.	1310	780	43	30
	med.	691	374	12	28
	min	297	364	24	20
	raíz	763	238	<5	16
12 días	hojas-máx	842	231	54	20
	med	338	218	65	27
	raíz	648	117	<5	n.d.

* Número de unidades germinadas (brotes, raíces etc)

EFFECTO DE LAS POLIAMINAS SOBRE EL CRECIMIENTO

Muchos tejidos vegetales son capaces de regenerarse en las plantas cuando están provistos con apropiadas condiciones hormonales y nutricionales, (64).

En 1948 Herbst y Snell observaron que el jugo de naranja contenia un factor que era necesario para el crecimiento de la bacteria *Hemophilus parainfluenza*, mas tarde fué identificada esta molécula como putrescina, (2, 14, 82).

El reciente interés por estudiar las poliaminas en los vegetales es el resultado de varias investigaciones que indican que estas moléculas pueden ser consideradas como factores de crecimiento y además controlarlo al estar asociadas con la proliferación celular, (2, 5, 7, 10, 14, 32, 41, 57, 64, 75, 101). El crecimiento rápido y la división celular están relacionados con el incremento de poliaminas en los sistemas vegetales, tanto "in vivo", como "in vitro", (15, 39, 49, 92).

Algunas evidencias de la participación de las poliami-

nas en el crecimiento son: a) Cortes de los túbulos la tentes de *Helianthus tuberosus* que pueden hacerse crecer por la aplicación exógena de auxina o poliaminas, aunque en condiciones fisiológicas es mayor la síntesis de poliaminas que de auxinas, b) Las células tumorales son ricas en poliaminas, pudiendo contener hasta 100 veces más del contenido normal de poliaminas, c) La germinación en tubérculos de papa y semillas está acompañada por un repentino incremento de poliaminas, d) La polinización inducida, el alargamiento de ovarios de toma te dentro del fruto es dependiente de la biosíntesis de poliaminas, e) Estabilización de membranas por poliaminas, (15, 35, 68, 100).

Uno de los mejores métodos para conocer el significado fisiológico de las poliaminas en los procesos de crecimiento celular y los mecanismo en los que pueden estar involucrados es por el uso de a) plántulas cultivadas en condiciones estériles, b) uso de inhibidores que interfiran en sus caminos biosintéticos, (14).

Las poliaminas no son transportadas "in vivo", pero sus aminoácidos precursores son transportados por la planta a los puntos de crecimiento activo en donde son convertidos a poliaminas, aunque es posible que el trans-

porte de poliaminas se realice dentro de la fracción del axón, (101).

Se ha observado en numerosos sistemas biológicos que el incremento en la síntesis y acumulación de poliaminas está precedido por un aumento en la actividad de las enzimas biosintéticas, (74).

El bloqueo de las actividades de ODC y ADC por inhibidores previenen la estimulación del crecimiento, (32), la MGBG también reduce el crecimiento como se observó en las plántulas de *Helianthus tuberosus*, esta inhibición es posible por una acumulación del inhibidor o una disminución en los niveles de arginina endógena durante el proceso de crecimiento, (15). La canavanina y canalina inhiben la inducción de la formación de raíces por IBA, (2), y afecta la formación de putrescina. La canavanina inhibe el alargamiento dependiente de IAA en avena y el crecimiento en raíces de frijol y células de soya, (41).

Los brotes de papa, tejido embriogénico de zanahoria, la formación de la raíz del garbanzo y el desarrollo del fruto del tomate están acompañados por un alto contenido de poliaminas o por un alto porcentaje de biosíntesis de putrescina, observándose un incremento si-

milar de ADC y ODC, (2, 57, 75). La actividad de ODC se asocia con un crecimiento proliferativo rápido en plantas, (36). Esta actividad es baja en tejidos latentes pero dramáticamente alta en sistemas de proliferación celular rápida como el crecimiento tumoral y durante la exposición al calor y stress, presencia de concentraciones altas en aminoácidos, administración de hormonas de crecimiento y adición de medio fresco, (94). En cambio la ADC afecta sólo a la diferenciación embrionaria y es la responsable del incremento en putrescina en hojas de avena sujetas a stress osmótico, (36).

El incremento de ADC se ha observado también en tejidos de zanahoria después de transferirlo a un medio embrionario, en células de tabaco crecidas "in vitro" y en el crecimiento de ovarios de tomate, la actividad de ODC se incrementó durante la proliferación celular; estos mismos datos se observaron para *Helianthus tuberosus*, (14). Un incremento en la actividad de ADC se presenta antes de la estimulación del crecimiento longitudinal posiblemente implicando un "efecto-causa" relacionado con la inducción de GA_3 en la biosíntesis de poliaminas y crecimiento, (32). Las poliaminas tienen una amplia función en el desarrollo embrionario de la planta, por ejemplo, la zanahoria silvestre involucra una mayor actividad de

ODC que de ADC, (36). Una elevación de ADC (38 veces) y putrescina (15 veces) se presenta en una fase temprana de crecimiento embrionario, altos niveles de ADC favorecen la ruta de arginina, agmatina y putrescina en el crecimiento y desarrollo, (74). En la raíz la actividad de ADC es aproximadamente la misma, siendo de 3-4 veces mas baja en la punta. En coleoptilos la actividad de la ADC es mas baja que la de ODC, y más activa en la base que en el ápice, (35).

Se han correlacionado elevados niveles de poliaminas y actividad de ADC con la presentación de la embriogénesis en cultivos, (36). La embriogénesis es inducida por auxinas, siendo la zanahoria una de las especies mas estudiadas, (18). Los axones embrionarios producen factores de crecimiento los cuales controlan directamente la formación de los cotiledones o endospermo, (48). Los niveles de putrescina y espermidina se elevaron en las células embrionarias, pero la espermidina presentó niveles bajos por lo que los cambios sugieren que las poliaminas pueden estar involucradas en la diferenciación celular durante la embriogénesis, (64). En las células embrionarias de zanahoria, la arginina es el principal precursor para la síntesis de poliaminas, (18).

Al estudiar los cultivos de células de zanahoria que fueron tratados con 1mM de DFMA se observó que exhiben cerca del 50% de reducción en la formación del embrión. La adición de putrescina, espermidina y espermina en el medio de cultivo restauran la embriogénesis, además la interconversión de las poliaminas hacia la putrescina se suma a éstos resultados. En cambio, la embriogénesis no es afectada significativamente por DFMO, (36). Como una respuesta a los tratamientos con IBA, se incrementa la relación de putrescina:espermidina, los tratamientos con IBA promueven una marcada actividad mitótica y la formación de raíces resultando un crecimiento más vigoroso. Este efecto de crecimiento y diferenciación está correlacionado con el incremento de poliaminas endógenas y los altos cocientes de putrescina:espermidina, (2,41). En depleción de poliaminas en el medio de crecimiento, el desarrollo celular es deficiente, la proliferación gradualmente decrece y eventualmente cesa. Estos hallazgos demuestran claramente los requerimientos de las poliaminas para el crecimiento, (5).

En los axones embrionarios de semillas cosechadas están presentes cantidades considerables de espermina y espermidina excepto en semillas de algodón que presentan un nivel relativamente bajo de espermina. La putrescina es

tá presente en niveles altos en los axones de cebada, maíz, chícharo, la relación molar de espermina y espermidina es 0.1 : 0.45, (57, 101).

Muchos de los efectos morfogenéticos inducidos por poliaminas (espermina y espermidina) tales como la división en el primer ciclo celular y la diferenciación de las yemas vasculares son semejantes a los inducidos por otras hormonas, (14, 75). El crecimiento del tejido en plantas resulta de una interacción entre hormonas tales como auxinas, (14, 41, 98), giberelinas, (32, 98), y citocininas, y de las modulaciones del fitocromo a través de la luz, que dirigen el marcado incremento en la concentración de poliaminas. Esta respuesta a una variedad de estímulos, se debe a que las poliaminas no son realmente transportadas en el tejido de la planta, por lo que se ha propuesto que la función de las poliaminas puede ser la de "mensajero intracelular", (14, 98). En relación a los efectos de GA_3 y poliaminas, se observó un incremento en la putrescina y espermidina hasta de 5 veces después del tratamiento con GA_3 , (32), su similitud con las auxinas es en la formación de raíces, excluyendo la extensión celular, (14,41), los efectos de IAA dependen de una activación con auxinas, la diferenciación histológica inducida por poliaminas es similar

a la inducida por IAA, la hormona vegetal más importante en los procesos de alargamiento o división celular, (15, 82). La síntesis y acumulación de poliaminas inducida por IAA y 2,4-D se incrementa hasta 10-20 veces cuando el túbulo comienza a crecer, (14).

La luz roja induce el crecimiento de retoños o yemas en el chícharo e inhibe la actividad de ADC, pero la luz roja con aplicación de GA_3 inhibe la acción de las gibberelinas. La inhibición de la actividad de ADC por la luz roja puede ser revertida por GA_3 , pero el GA_3 no tiene efecto en la actividad de ADC en la obscuridad, (32, 35).

Las poliaminas protegen a las bacterias de la pérdida de la viabilidad porque penetran la pared celular y se unen estrechamente a la membrana citoplasmática. También se sugiere que la estabilización por poliaminas está relacionado con cambios en las propiedades catiónicas de la membrana, (68, 102). El mecanismo de acción está relacionado también con interacciones con ácidos nucleicos, (14). Se ha observado que las poliaminas tienen un efecto estabilizante en las membranas de las raíces de betabel, posiblemente como un resultado de su unión con los componentes fosfolipídicos de estas, (102).

Altas concentraciones de iones calcio siguen patrones similares a las poliaminas sugiriendo que la espermina puede actuar como sustituto de calcio a altas concentraciones, (43, 68). Las poliaminas se intercambian con el calcio de las células y su liberación parece depender del número de grupos básico por molécula, (102).

Cuando se rebana el tejido parenquimatoso se elimina el estado latente, pero si se cultiva "in vitro" sin hormonas exógenas no se divide, por el contrario, cuando entra en contacto con la hormona apropiada, un gran número de células cambia sus funciones de células parenquimatosas a células meristemáticas y son inducidas a dividirse sincronicamente al menos por 2-3 ciclos celulares, (15).

En las raíces se puede detectar espermina libre sólo en los extremos apicales que tienen actividad meristemática, pero no en las regiones basales. En coleótilos donde no ocurre la división celular, la espermina libre no fué detectada, (35). La acumulación del contenido de espermina que se puede llegar a presentar se explica por el hecho de que la putrescina inhibe la síntesis de espermina por competencia con la espermidina. Cuando el contenido de putrescina decrece por falta de ornitina

o poliaminas, la espermina compete más favorablemente por el sitio activo produciendo un incremento de espermina, (5).

Los tejidos de plantas en estado activo en general contienen suficiente cantidad de poliaminas para los requerimientos metabólicos, son almacenadas como se observó en *Helianthus tuberosus*, por ésto la suplementación exógena de poliaminas puede tener efectos inhibitorios, por el contrario la suplementación en tejidos que contienen una cantidad baja de poliaminas durante el estado latente en tubérculos puede ser efectiva ya que van a estimular el crecimiento, (15, 41). La suplementación exógena en *Helianthus tuberosus*, reemplaza la síntesis natural de poliaminas que ocurre cuando el tubérculo es tomado del estado latente, cambiando las células parenquimatosas a células meristemáticas e iniciar así la división. Las poliaminas exógenas son capaces de estimular la división celular en cultivos "in vitro", siendo los tratamientos exógenos usualmente aplicados a concentraciones de 100 - 1000 veces, (10, 15, 41).

Cuando las poliaminas son administradas en el medio, estimulan la división celular por sí mismas. pero no pueden inducir el alargamiento celular, (14,15).

Las concentraciones elevadas de poliaminas están asociadas con una proliferación celular rápida para sintetizar nuevas paredes y regenerar así a la planta, en cultivos de tabaco y en partes vegetales de división celular rápida tales como los meristemos de tomate y papa y en el desarrollo de raíces de *Phaseolus* y semillas de arroz, también en el endospermo de coco se han encontrado grandes cantidades de putrescina. La mayoría de los estudios se han centrado en plántulas de *Helianthus tuberosus*, (8, 36, 39, 41, 52, 74, 82).

Las plantas superiores son particularmente útiles como fuente para hacer cultivos de células y tejidos "in vitro" y representan un buen modelo para estudiar la relación existente entre las poliaminas y el crecimiento de tejidos sanos y tumorales en diferentes estados de desarrollo, (15, 57). Para obtener información de los posibles papeles de las poliaminas en el crecimiento de plantas y en sus procesos de desarrollo se han estudiado la distribución de las poliaminas y los niveles de la actividad de ADC y ODC a través de los axones de dos órganos de crecimiento activo en semillas de maíz: a) Coleoptilos, en los cuales no hay división o cambios en los patrones, y en donde el crecimiento es debido al alargamiento celular, b) Raíces en donde la división celular

es localizada en el meristemo apical y las secuencias ordenadas de alargamiento y diferenciación celular pueden ser anticipadas, (35), también el crecimiento fue demostrado en plántulas de *Helianthus tuberosus* cultivando el túbulo "in vitro". Los bajos niveles de poliaminas endógenas, IAA, citocininas y giberelinas y altos niveles endógenos de inhibidores como el ácido abscísico, cuando el tubo está latente, no permite la proliferación celular, pero cuando se suministra de 10 - 100 μ M de poliaminas, las células tubulares son capaces de dividirse y crecer. *Helianthus tuberosus* tiene otras ventajas como son la de propagarse por reproducción vegetativa, está provisto de tejido homogéneo (la misma población celular) por varios años y en estado latente la célula del parénquima representa la mayor parte del tubérculo en la fase G₁ del ciclo celular, la fig. 19 muestra el efecto de las poliaminas en el crecimiento de *Helianthus tuberosus*, (14, 15, 75).

En los tres casos más estudiados, zanahoria, tabaco y Scorzonera, un cambio en la morfología fue acompañado por cambios en los niveles de poliaminas y principalmente en putrescina. Las alteraciones en los niveles no son necesariamente acompañados por cambios similares en otras poliaminas, por ejemplo, la putrescina puede incre

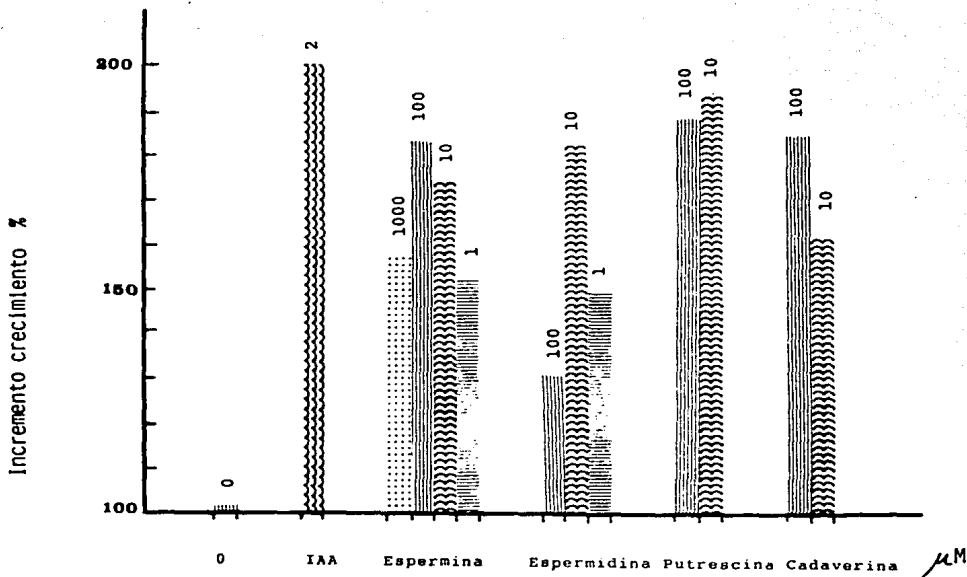


Fig. 19 Efecto de las poliaminas en el crecimiento de túbulos latentes de *Helianthus tuberosus*, "in vitro", (14).

mentarse mientras que la espermina decrece, (64). Durante el inicio de la fase de expansión celular, la relación putrescina:espermidina disminuye en los axones embrionarios y en los cotiledones en la semilla de soya en desarrollo; en los cotiledones parece que se debe a un aumento en los niveles de espermidina a expensas de putrescina preexistente, mientras que en los axones es debido aparentemente a una conversión activa de putrescina recién sintetizada, esto sugiere que la relación de putrescina:espermidina está inversamente relacionada con la actividad de la biosíntesis de macromoléculas, en otras palabras, la síntesis de espermidina puede ser importante en el desarrollo, (57).

Se han comparado los efectos de putrescina, cadaverina, espermina y espermidina sobre el crecimiento y los resultados demostraron que la espermidina fué la mas efectiva a 10^{-5} M o el 82% del peso seco, la putrescina 10^{-5} M o el 81%, la cadaverina 10^{-4} M o el 73%, y la espermina 10^{-4} M o el 36% del peso seco sobre los controles, (82).

El requerimiento de poliaminas para el crecimiento de *Helianthus tuberosus* es debido a una deficiencia temporal de éstas durante el estado latente, (15). En plantas de chícharo etiolado, los cotiledones actúan como el

origen de materiales para usarse en el crecimiento rápido de raíces y brotes, (101). Se ha demostrado que el crecimiento activo en tejidos habituados y tumorales en túbulos de polen, brotes de papa, fruta de tomate, así como en embriones y en diferentes órganos están relacionados con el contenido de poliaminas y su metabolismo. En suma las poliaminas presentan una respuesta al estímulo del medio ambiente y de hormonas, (41). Las poliaminas parecen ser los factores más importantes involucrados en el crecimiento y su regulación y existen posibilidades de que puedan tener alguna conexión con el crecimiento anormal de células tumorales, (14).

Los varios mutantes del tabaco con elevados niveles de poliaminas presentan el meristemo floral anormal, esto sugiere que el desarrollo floral es muy sensible a las perturbaciones metabólicas, y tal vez los gradientes de poliaminas están involucrados en la determinación del desarrollo de los meristemas florales, (59). El crecimiento activo y la división celular de tumores de *Zoronerz hispanica* y *Sesamum*, tejidos habituados de *Nicotiana glauca* se correlacionaron con niveles altos de putrescina y espermidina, (2).

Las altas concentraciones de poliaminas tienen un efecto

de deterioro, porque inducen cromosomas anormales, así como las bajas concentraciones de poliaminas, por ejemplo la replicación del DNA es más sensible a la deficiencia de poliaminas que otros eventos del ciclo celular por lo que la falta de poliaminas puede aumentar las aberraciones cromosómicas en las células acumuladas en la fase G₂, (5, 82).

Los tres tipos de tumores más estudiados en las plantas son: el "crow gall" de *Zorroneira hispanica*; inducido por lesiones tumorales de *Agrobacterium tumefaciens*; los tejidos habitados de *Scorzonera hispanica* y *Nicotiana glauca* inducidos por una auxina sintética, el ácido 2,4-diclorofenoxiacético; y el tumor genético de *Nicotiana glauca* x *Nicotiana langsdorffii*; en la fig. 20 se muestra el total de poliaminas en estos tres tumores comparados con un tumor animal, (12, 13).

La diferencia entre los tumores vegetales y los animales es la falta de metástasis en los primeros, a pesar de esta diferencia existe una substancial identidad en el mecanismo básico de la neoplasia, (12).

La diferenciación embrionaria en células cancerígenas "in vitro" inducida por DFMO sugiere que las poliaminas

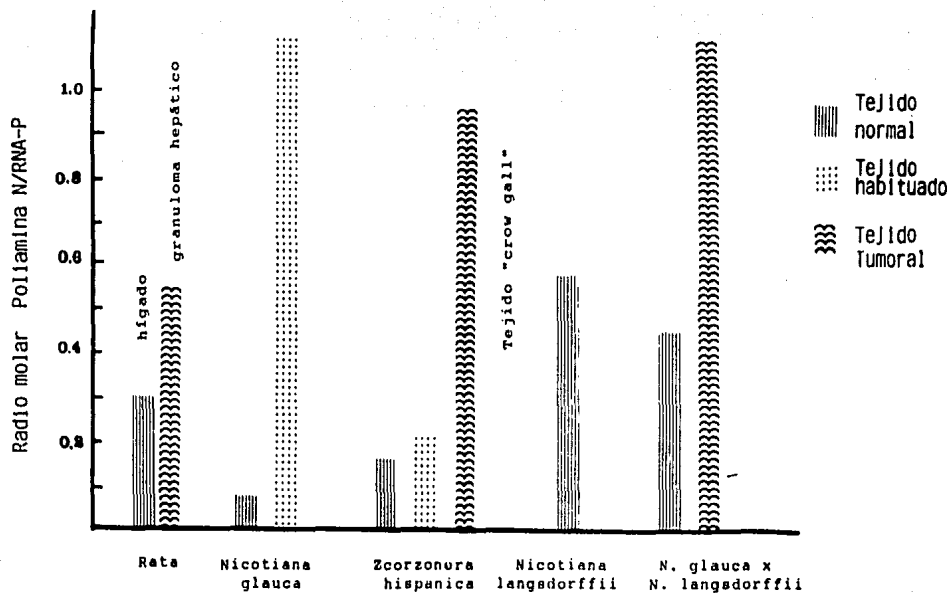


Fig. 20 Total de poliaminas en tumores vegetales de diferentes etiologías comparados con un tumor animal, (12).

pueden tener funciones muy amplias en diferentes tipos de células, parece por lo tanto que las poliaminas y sus enzimas biosintéticas son esenciales para la diferenciación en numerosas especies y tipos celulares, (36).

La fig. 21 muestra las poliaminas en los diferentes tumores de crecimiento rápido o lento tanto en plantas como en animales, en el tumor y en el callo habituado, el crecimiento no es organizado, y el callo formado en presencia de espermina no fue diferente al formado en presencia de IAA, (14, 64, 82).

Una gran cantidad de putrescina y espermidina pero no de espermina se detectó siempre en todos los tumores examinados en plantas y parece independiente de los agentes etiológicos relacionados con los diferentes grados de crecimiento en los tejidos, (14, 74, 77), los niveles de putrescina y espermidina fueron superiores en el tejido tumoral (*Scorzonera hispanica*, "crow gall") con respecto al tejido habituado. En general fueron 100 veces superior en el tejido tumoral, mientras que la espermina fué la mitad del nivel en el tumor comparado con el normal, (64).

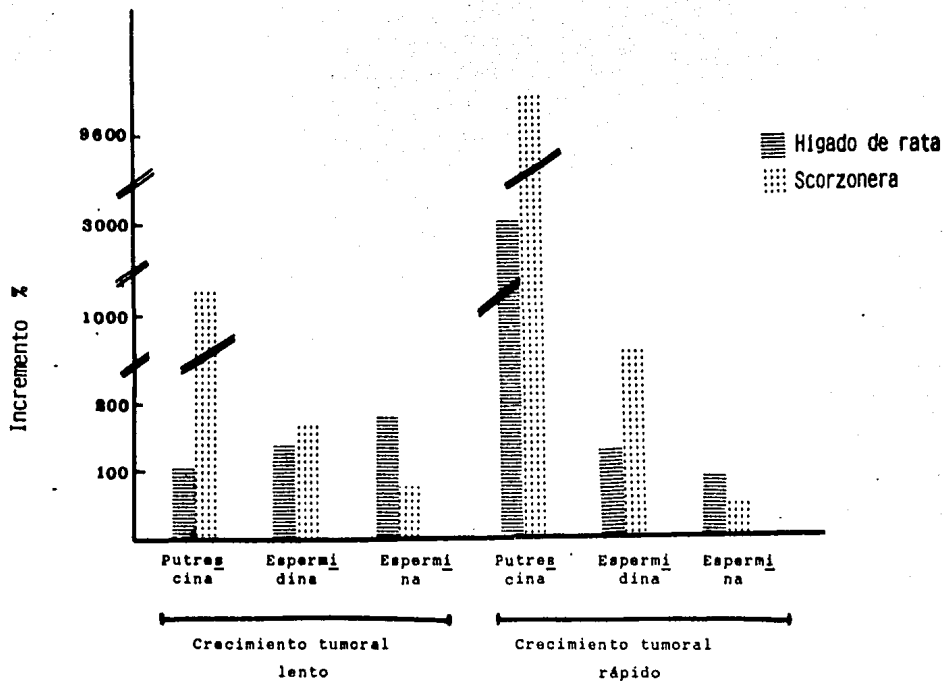


Fig. 21 Crecimiento tumoral en animal y tejido vegetal y su relación con las poliaminas, (14).

EFFECTO DE LAS POLIAMINAS SOBRE EL ENVEJECIMIENTO Y
DAÑO TISULAR.

Las células vegetales aisladas tienden a envejecer rápidamente por lo que su vida media es más corta a diferencia de la que presentan en la planta intacta, (3).

El envejecimiento de las hojas incluye una serie de eventos degradativos como el agotamiento de proteínas y ácidos nucleicos, desintegración de la estructura del cloroplasto y pérdida de la clorofila y de la actividad fotoquímica con un incremento en el número de enzimas hidrolíticas, (92). El análisis de poliaminas en una variedad de órganos y tejidos envejecidos revela que este proceso puede estar relacionado con la pérdida de los niveles de putrescina, espermidina y espermina, (2,23).

Las hojas con altos niveles de poliaminas exhiben el síndrome del envejecimiento de manera muy marcada, (avena), los cuales pueden ser prevenidos por la aplicación exógena de poliaminas, mientras que hojas con niveles bajos (*Heliotropium*) exhiben sólo muy ligeramente este síndrome, (20).

La actividad de las enzimas biosintéticas de las polia-

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

minas decrece durante el envejecimiento, (53), por lo tanto la adición de poliaminas al medio de cultivo retardan el envejecimiento como se ha comprobado en plantas mono- y dicotiledóneas, (37), estabilizan las protoplastos de las hojas de avena, inducen la mitosis limitada y retardan la pérdida de clorofila, (3, 23, 40, 53, 67, 70, 90, 91, 93).

Este efecto protector de las poliaminas (principalmente la. espermidina) al envejecimiento puede deberse en parte a su naturaleza catiónica ya que se unen a los fosfolípidos de las membranas, (91), o previenen el incremento en la actividad de las proteasa y la producción de etileno que precede a la pérdida de clorofila, (75).

El contenido de las poliaminas declina con la edad debido principalmente a una exportación más que a la degradación "in situ", (20, 19), este fenómeno se ha estudiado en influorescencias y hojas de *Heliotropium angiospermum* y *H. indicum*, (20), con la edad también decrece el nivel de los ácidos nucleicos y las proteínas como se ha observado en el arroz, (67).

El envejecimiento también se ha estudiado en hojas de rábano, avena, arroz, soya, papa, trigo, en todos se ha observado una considerable pérdida del contenido de po-

liaminas endógenas.

La producción de etileno y pérdida de la clorofila están asociados con el envejecimiento requiriendo la integridad de las membranas, (42).

Las poliaminas son más efectivas a altas concentraciones para retardar el envejecimiento como se observó en hojas de trigo, o a concentraciones más bajas pero en segmentos de hojas cortos, la concentración adecuada es de 10mM, (4, 23, 35, 93), siendo la espermina la más efectiva, seguida de la espermidina, putrescina y cadaverina, (53).

La actividad de las poliamina-oxidasas aumenta con la pérdida de la viabilidad como en el caso de la semilla de arroz, (67). El envejecimiento en los pétalos de algunas variedades de plantas libera antocianinas, cuya liberación no es eliminada por las poliaminas, en cambio el flujo de betacianinas en las raíces del betabel fue bajo en presencia de espermidina, incrementándose hasta en un 55% en el tejido no tratado, (2, 93).

Los efectos de las poliaminas parecen ser similares a los de las citocininas, ya que ambas retardan el enveje-

cimiento, (23, 91), además de que las citocininas retardan la pérdida de proteínas y pigmentos durante el envejecimiento preservando la estructura del cloroplasto, (25).

Uno de los primeros eventos en el envejecimiento es el aumento de las proteasas como ha sido observado en hojas de rábano, protoplastos de avena y tejido almacenado de varias plantas, (73). El corte e incubación de hojas de avena causan un gran incremento en la actividad de las proteasas las cuales preceden la pérdida de la clorofila, puede por lo tanto decrecer el envejecimiento por inhibición de las proteasas, (2, 53, 79, 98).

La inhibición de la actividad de la proteasa ocurre por la neutralización de los sitios activos de la enzima por la poliamina, retardando así el aumento de la actividad de la proteasa y consecuentemente el envejecimiento. La diferente capacidad de inhibición de las poliaminas puede ser debida al número de grupos amino libres que contribuyen a las propiedades catiónicas, por lo tanto la espermina que tiene el mayor número de éstos grupos es la mas efectiva, (53).

Las poliaminas también ejercen su acción a través de la

interacción con las cargas negativas de la membrana y la estabilizan durante el envejecimiento en donde se observa una pérdida en la integridad membranal, (2, 35, 38, 67, 68, 70, 98), el efecto de las poliaminas en el envejecimiento depende de la edad del tejido, ya que este proceso es mas rápido en las membranas jóvenes, (92). La espermina actúa directamente con las membranas internas del cloroplasto, esto sugiere una estabilidad de la membrana a la degradación frente al envejecimiento, (70).

Las poliaminas previenen la pérdida normal de clorofila cuyo contenido es también una medida del envejecimiento, (4, 23, 25, 42, 53, 54).

La pérdida de la clorofila se localiza principalmente en la áreas donde se separa la hoja o cerca de las nevaduras en el caso de la hoja de soya, como se aprecia en la figura 22, y el efecto en discos como se observa en la figura 23, (23).

La espermina inhibe completamente la degradación de la clorofila y mantiene los niveles hasta por 96 horas en varios sistemas vegetales, como se aprecia en las figuras: 24, 25, 26, (2, 23, 70).

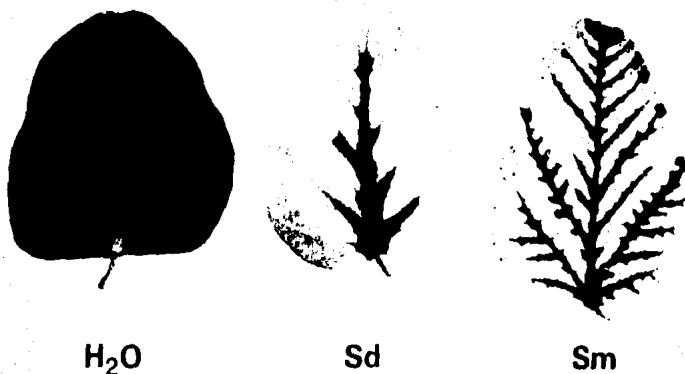


Fig. 22 Efecto de las poliaminas en la pérdida de clorofila en hojas primarias de soya. Las hojas fueron sumergidas en una solución con espermidina 10 mM o espermina, por 48 horas en la oscuridad, (23).

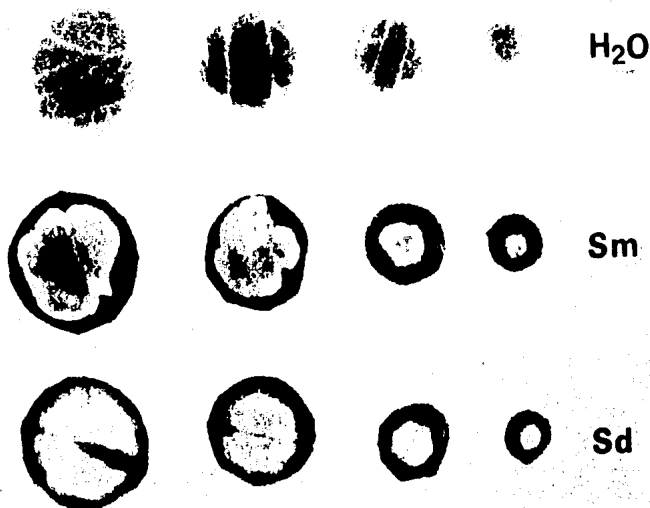


Fig. 23 Efecto de las poliaminas en la pérdida de clorofila en discos de hojas de soya. Los discos fueron tratados con espermidina 10 mM o espermina por 48 horas en la obscuridad. Los diámetros son de izquierda a derecha de 18, 15, 11, 8 mm respectivamente, (23).

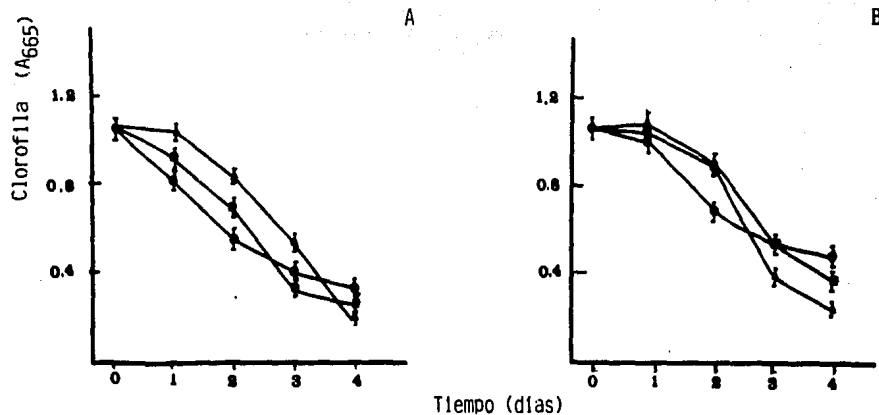


Fig. 24 Efecto de las poliaminas en los niveles de clorofila . Los segmentos se trataron con 10 mM de espermidina o espermina en la oscuridad.
 A) Segmentos de 3 cm. La pérdida de clorofila fué expresada en A_{665} por 10 segmentos.
 B) Segmentos de 1 cm. A_{665} por 30 segmentos.
 Agua ▲ , espermidina ■ , espermina ● , (23).

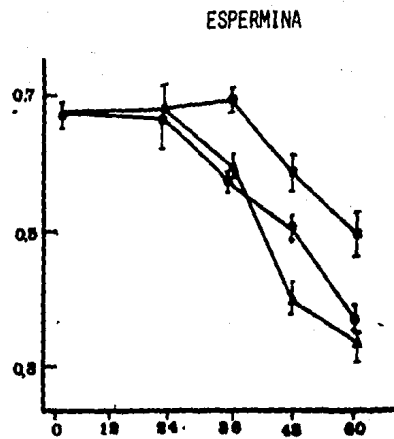
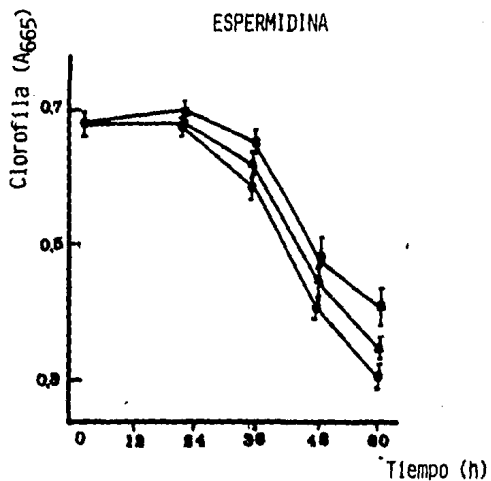


Fig. 25 Efecto de la concentración de espermidina y espermina en los niveles de clorofila en segmentos de hojas de trigo tratadas en la obscuridad.
 agua ▲ , 1 mM ● , 10nM ■ , (23)

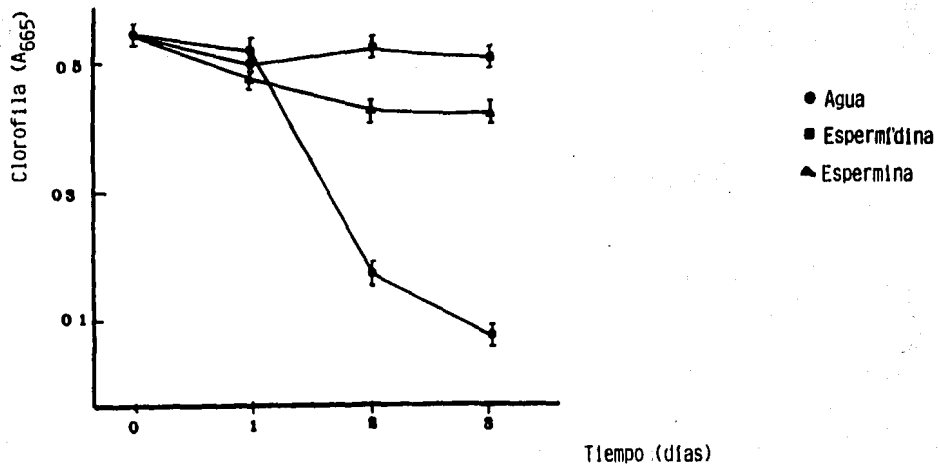


Fig. 26 Efecto de las poliaminas en los niveles de clorofila en discos de hojas de soja, tratadas con 10 mM de espermidina y espermina en la oscuridad, (23).

Las poliaminas exógenas además de retardar la pérdida de la clorofila, la degradación de las proteínas y/o el incremento en la actividad de la RNasa en hojas de avena o rábano en la obscuridad, también reducen la producción de etileno en tejidos viejos, (20). Sin embargo al inhibir la degradación de la clorofila no se reduce la pérdida de la capacidad fotosintética que es característica del envejecimiento, por lo tanto, la función de las poliaminas parece ser selectiva, (93).

La inhibición de la pérdida de la clorofila es antagonizada por el calcio, (38), y por otra parte el Dap retarda ligeramente el envejecimiento por degradación de la clorofila en hojas de rábano y brócoli; en cambio en avena la inhibición es alta, esta diferencia entre cereal y dicotiledoneas está relacionada con la ausencia natural de Dap en las primeras variedades vegetales, (79).

El calcio aplaza el envejecimiento porque estabiliza a las membranas, (25, 91), al competir con las poliaminas por el sitio electronegativo de la membrana, (38, 53), además reducen competitivamente los efectos del Dap, (79), estimula la producción de etileno por auxinas, en donde el magnesio no tiene efecto (93) y junto con las poliaminas estabiliza a los protoplastos, (3).

La producción de etileno y la pérdida de la integridad de la membrana es característico de tejidos envejecidos, por lo tanto la producción de etileno está involucrada con el envejecimiento en la hojas, (20, 38, 93).

Las poliaminas reducen la cantidad de etileno producido por el envejecimiento en pétalos de *Tradescantia*, (93), y en manzanas a través de su interacción con las membranas, (98), siendo la espermina y la espermidina más efectivas que la putrescina y la cadaverina, en la tabla VIII se observa el efecto de varias poliaminas en la producción de etileno y liberación de antocianinas de pétalos envejecidos de *Tradescantia*, (93).

La espermina y la espermidina inhiben el último paso de la biosíntesis de etileno (conversión de ACC a etileno) en *Tradescantia* y hojas de avena por inhibición de la ACC, además de que todas las poliaminas inhiben la biosíntesis de etileno producida por IAA y auxina, (38, 93). Estos datos se aprecian en la tabla IX, (93).

Se ha observado en la avena que el desprendimiento de las hojas y la obscuridad aceleran el envejecimiento, (20), y que las poliaminas previenen la pérdida de la clorofila en las hojas incubadas en la obscuridad, en estas hojas se observa un incremento en la actividad de

TABLA VIII

EFFECTO DE POLIAMINAS EN LA PRODUCCION DE ETILENO Y LIBERACION DE ANTOCIANINAS EN PETALOS ENVEJECIDOS DE *Tradescantia*.

COMPUESTO	CONCENTRACION	ETILENO	EFLUJO
	mM	PRODUCIDO	ANTOCIANINAS
		%	%
Control	-	100	100
Putrescina	1	94	84
	10	34	98
Cadaverina	1	82	82
	10	40	93
Espermidina	1	42	85
	10	19	87
Espermina	1	33	91
	10	22	83

TABLA IX

EFFECTO DE VARIAS POLIAMINAS EN LA PRODUCCION DE ETILENO
INDUCIDO POR IAA EN HIPOCOTILOS DE SOYA AISLADOS.

COMPUESTO	CONCENTRACION mM	ETILENO PRODUCIDO nl
Control	-	55.4
Putrescina	1	29.7
	10	4.4
Cadaverina	1	37.4
	10	16.5
Espermidina	1	17.2
	10	3.2
Espermina	1	15.8
	10	10.0

las proteasas, (53).

La promoción y prevención del envejecimiento en la oscuridad puede ser debido al hecho de cerrar y abrir los estomas respectivamente, generalmente los estomas se cierran durante el oscurecimiento, (20).

Con la luz se observa que el envejecimiento es menor, (35), aunque con la luz el Dap promueve ligeramente la pérdida de la clorofila, (79), igualmente las poliaminas promueven más que inhibir la pérdida de clorofila en hojas incubadas con luz, (4).

La actividad de la ODC no es afectada por la luz o por los tratamientos osmóticos, pero de todos modos la acumulación en hojas es menor con sombra que con luz, (38).

La respuesta de la putrescina al stress osmótico es aumentada por la luz y es posible que un control fitocrómico en el control de la ADC este involucrado, (40).

Las poliaminas estan involucradas con el control de fenómenos relacionados al stress tales como el envejecimiento, heridas y salinidad, (4), éste stress inducido produce cambios en los patrones de las poliaminas, (38).

La espermidina y la putrescina en protoplastos y células de cereales expuestos a shock osmótico se acumulan, esto se puede observar en la avena, avena silvestre, maíz, cebada y trigo, las sustancias osmóticas más comunes producidas durante el stress son el sorbitol, manitol, prolina, betaína, sacarosa, (37, 40).

Un incremento en niveles de putrescina se observan con deficiencia de potasio, magnesio, stress ácido y alimentación con NH_4Cl . Se ha comprobado que el stress osmótico en hojas de cereales actúa sobre la ADC para la síntesis de putrescina, además de que no es reversible, (37). La respuesta de la putrescina al stress es por varios días y mientras que el incremento de putrescina en respuesta al shock osmótico o acidez ocurre en pocas horas, (40).

La DFMO bloquea la formación de putrescina causando un shock osmótico el cual activa a la ADC, (40) que se incrementa hasta 3 veces con el stress en hojas de avena, con la luz o con la obscuridad, (38).

Se ha observado que la actividad de la ADC varía en contraposición con la de ODC que permanece constante con el stress osmótico. El incremento en la putresci-

na es un resultado directo del tratamiento osmótico, pero la espermina y la espermidina permanecen constantes o presentan un ligero decremento con un simultáneo incremento en el Dap, (40).

Las figuras 27 y 28 representan los cambios en las poliaminas sujetas al stress osmótico y el aumento de putrescina en varios sistemas vegetales.

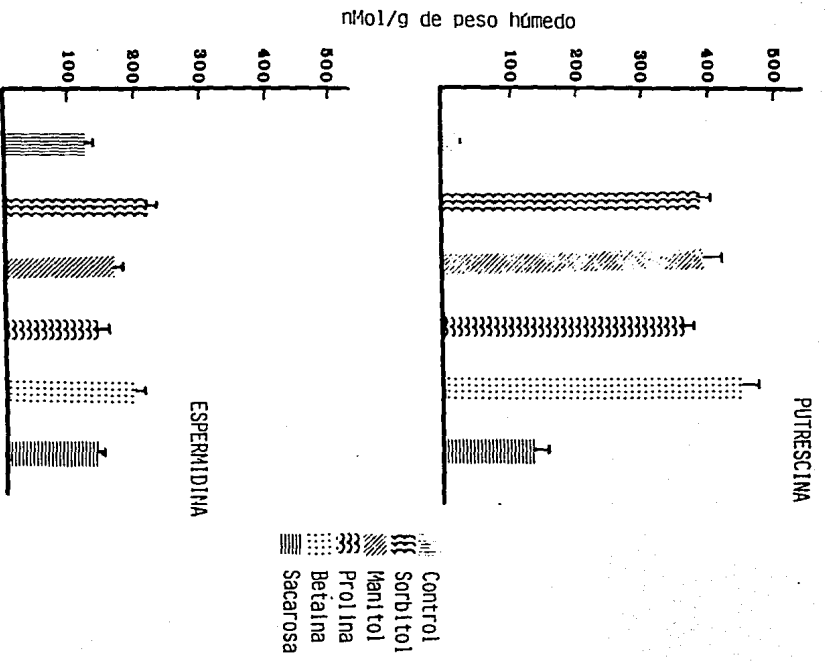


Fig. 27 Efecto de diversos osmóticos (0,4 M) en la acumulación de poliaminas en segmentos de hojas de avena, (37).

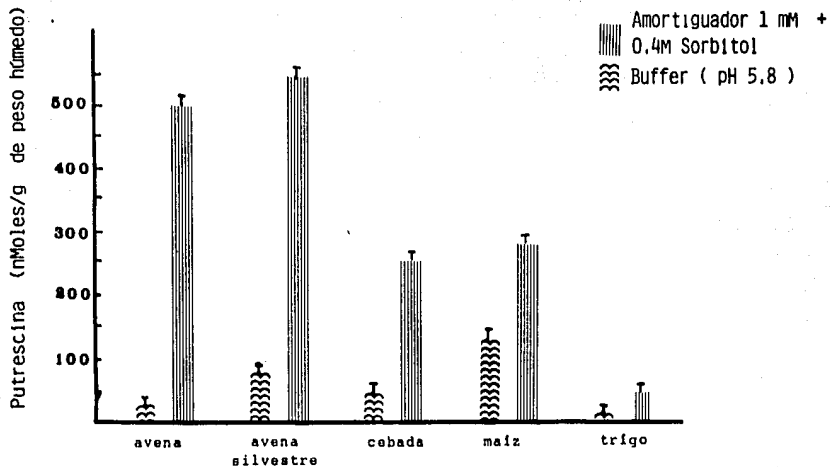


Fig. 28 Cambios en el contenido de putrescina en segmentos de hojas de diferentes cereales bajo stress osmótico, (40).

POSIBLES APLICACIONES EN FRUTICULTURA

El gran incremento en el contenido de poliaminas después de la fertilización del óvulo y durante la formación de la semilla del trigo y la germinación de las semillas de *Phaseolus vulgaris*, junto con la habilidad de los embriones de los cotiledones para sintetizar las poliaminas "de novo" sugieren que estos factores de crecimiento pueden jugar un papel en la fertilización, en el florecimiento de las plantas y en el rendimiento de la fruta, sin olvidar la acción protectora en las semillas sometidas a altas temperaturas, (2, 4, 29).

Ya se han realizado algunas investigaciones sobre la utilización de poliaminas en fruticultura, la fruta más estudiada a este respecto ha sido el manzano (*Malus domestica* Borkh cv. Ruby spur) en donde se observó que al rociar poliaminas después de nueve días de la floración se incrementa la formación de brotes florales, aumenta el rendimiento de frutos por árbol, así como su tamaño y peso, demostrando de esta manera su efecto positivo en la fertilización, (11, 29).

La pulpa de los frutos de árboles tratados con poliaminas también fué mejor, aumenta el contenido de azúcar y como consecuencia su sabor, las poliaminas causan una reducción en el número de semillas pero a su vez estimula la diferenciación del brote frutal. Se ha observado que el efecto es durante la división celular pero no durante el alargamiento celular. Los mejores resultados se obtuvieron con concentraciones de 10^{-4} M de espermina, 10^{-5} M de espermidina y putrescina y 10^{-6} M de cada una de las poliaminas cuando se aplicaban mezcladas, como se observa en la tabla X, (29).

Es muy importante observar la carencia de efectos negativos en la aplicación de poliaminas, en contraste con estudios análogos con otros reguladores del crecimiento como PP₃₄₁, BA, GA₃, con los cuales, un incremento en el número de frutos por árbol fué asociado con una reducción en el peso individual del fruto, además de que las giberelinas al ser usadas para aumentar el rendimiento del fruto disminuyen la diferenciación de la yema floral, (29).

Por otra parte se ha observado que las poliaminas inhiben el aumento en la actividad de RNasa ayudando a obtener protoplastos más estables los cuales pueden ser

TABLA X

EFEECTO DEL TRATAMIENTO CON POLIAMINAS EN EL PESO Y
RENDIMIENTO EN MANZANAS.

POLIAMINA	CONCEN- TRACION (M)	PESO INICIAL (% CONTROL)	PESO FINAL COSECHA (% CONTROL)	RENDIMIEN- TO (% CONTROL)
Espermina	10 ⁻⁶	114.6	114.6	118.7
	10 ⁻⁵	158.5	147.6	168.8
	10 ⁻⁴	74.4	74.4	96.4
	10 ⁻³	--	--	--
Espermidina	10 ⁻⁶	80.5	80.5	82.9
	10 ⁻⁵	107.3	80.5	86.0
	10 ⁻⁴	176.8	164.6	204.0
	10 ⁻³	59.5	46.3	53.9
Putrescina	10 ⁻⁶	148.8	122.0	128.2
	10 ⁻⁵	203.7	179.3	211.1
	10 ⁻⁴	80.5	67.0	63.3
	10 ⁻³	54.9	54.9	68.9
Espermina + Espermidina + Putrescina	10 ⁻⁶	185.4	185.4	202.6
Control		100.0	100.0	100.0

útiles en cultivos experimentales para mejorar la cosecha de cereales, (51).

Usando los tumores vegetales como modelos experimentales y con la ayuda de poliaminas en la regulación del crecimiento y en el mecanismo del control celular se pueden obtener datos sobre los factores que permiten a la célula tumoral crecer de manera autónoma, y buscar así la manera de evitarlo, (77).

Los niveles de poliaminas aumentan en presencia de altas concentraciones de cloruro de sodio y bajas concentraciones de iones potasio, ejerciendo un efecto regulador del pH intracelular, (62, 81, 82). También sustituye a los iones de calcio y magnesio, (48, 63). Esto sugiere que controlando el contenido y la biosíntesis de las poliaminas en las plantas que crecen en terrenos ricos en sales, se puede aumentar la superficie de tierra cultivable, como ha sido propuesto por algunos investigadores, (7, 89).

Las poliaminas proporcionan los medios necesarios para poder controlar el crecimiento artificialmente, (81). Gracias al conocimiento de su función puede ser programada su liberación en cultivos durante el proceso de fertilización o en cualquier otra fase preestablecida, además de servir como índice de fertilidad o esterilidad vegetal, (9).

CONCLUSIONES.

En base a toda la información analizada sobre las poliaminas y vegetales se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- Las poliaminas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal.
- Presentan dos rutas metabólicas predominando la ruta de la arginina, lo que asegura su subsistencia en el reino vegetal.
- Estabilizan a las membranas y las protegen contra la lisis.
- Pueden reemplazar al magnesio, favoreciendo la síntesis de proteínas, participando de este modo en la regulación de la diferenciación celular y tisular.
- Juegan un papel importante en el proceso de la germinación.
- Sirven como factores de crecimiento.
- En general retardan el envejecimiento en plantas evitando la degradación de la clorofila.
- Tiene un efecto protector ante condiciones de stress como lesiones, calor y salinidad.

- Controlan el pH intracelular bajo condiciones deficientes de potasio.
- Existen posibilidades para la utilización de las poliaminas en fruticultura.

GLOSARIO.

ODC	Ornitina descarboxilasa
ADC	Arginina descarboxilasa
SAM	S-adenosilmetionina
SAMD	S-adenosilmetionina descarboxilasa
ARG	Arginina
AGM	Agmatina
PUT	Putrescina
CAD	Cadaverina
ESP	Espermina
ESD	Espermidina
←-DFMO	←-difluorometil ornitina
←-MO	←-metil ornitina
←-DFMA	←-difluorometil arginina
←-MA	←-metil arginina
MGBG	Metilglioxal bis(guanilhidrazona)
FAD	Flavin-adenin-dinucleótido
CAN	Canavanina
CAV	Canalina
Dap	1,3-diaminopropano
Dap-OH	1,3-diaminopropan-2-ol
AdoDATO	S-adenosil-1,8-diamino-3-tiooctano
2,4-D	Ac. 2,4-diclorofenoxiacético

DNA	Ac. Desoxirribonucléico
RNA	Ac. Ribonucléico
mRNA	RNA mensajero
rRNA	RNA ribosómico
tRNA	RNA de transferencia
GA ₃	Ac. Giberélico
IAA	Ac. β -indolacético
IBA	Ac. Indolbutírico
M	Molar
μ	Micro

NOMBRES BOTANICOS

<i>Equisetum</i> spp.....	Equiseto
<i>Hordeum vulgare</i>	Cebada
<i>Oryza sativa</i>	Arroz
<i>Zea mays</i>	Maíz
<i>Sorghum vulgare</i>	Sorgo
<i>Helianthus tuberosus</i>	Alcachofa de Jerusalem
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Frijol
<i>Cucumis melo</i>	Melón
<i>Triticum</i>	Trigo
<i>Vicia</i>	Arveja
<i>Ricinus</i>	Ricino
<i>Sesamum</i>	Sésamo, alegría
<i>Luffa cylindrica</i>	Calabaza de Estropajo
<i>Galega</i>	Galega
<i>Petunia hybrida</i>	Petunia
<i>Avena sativa</i>	Avena
<i>Nicotiana</i>	Tabaco
<i>Tradescantia</i>	Tradescantia
<i>Malus domestica</i>	Manzano
<i>Lilium</i>	Tulipán, Ajo, Cebolla, Aloe
<i>Tragopogon porrifolius</i> ...	Salsifí
<i>Pisum sativum</i>	Chícharo
<i>Scorzonera hispanica</i>	Escorzonera
<i>Heliotropium indicum</i>	Heliotropo de Colombia

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Abdel-Monen, M., M. (1981). Inhibitors of polyamine biosynthesis. *Advances in polyamine research*, Vol 3 Ed. C.M. Calderera et al. Raven Press. N.Y. pp. 137-151.
- 2.- Altman, A., Bachrach, U. (1981) Involvement of polyamines in plant growth and senescence. *Advances in polyamine research*. Vol 3. Ed. C.M. Calderera et al. Raven Press. N.Y. pp. 365-375
- 3.- Altman, A., Kaur-Sawhney, R., Galston, A.E. (1977). Stabilization of oat leaf protoplast through polyamine-mediated inhibition of senescence. *Plant Physiol.* 60:570-574
- 4.- Altman, A. (1982). Retardation of radish leaf senescence by polyamines. *Physiol. Plant.* 54:189-193.
- 5.- Anehus, S., Pohjanpelto, P., Baldetorp, B., Lånström, E., Heby, O. (1984). Polyamine starvation prolongs the S and G₂ phases of polyamine-dependent (arginase deficient) CHO cells. *Mol. Cell. Biol.* 4(5):915-922

- 6.- Bachrach, U. (1970). Metabolism and function of spermine and related polyamines. Ann. Rev. Microbiol. 24:107-134
- 7.- Bagni, N. (1982). Significato delle ammine nella piante. Estratto da "Informatore Botánico Italiano" 14(1):118-123.
- 8.- Bagni, N. (1966). Aliphatic amines and a growth factor of coconut milk as stimulating cellular proliferation of *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) "in vitro". Experientia 22(2):732-733.
- 9.- Bagni, N., Adamo, P., Serafini Fracassini, D. (1981). RNA, proteins and polyamines during tube growth in germinating apple pollen. Plant Physiol. 68:727-730.
- 10.- Bagni, N., Malucelli, B., Torrigiani, P. (1980). Polyamines, storage substances and abscisic acid like inhibitors during dormancy and verly early activation of *Helianthus tuberosus* tuber tissues. Physiol. Plant. 49:341-345.

- 11.- Bagni, N., Pistocchi, R. (1985). Putrescine uptake in Saint-paulia petals. *Plant Physiol* 77(2):398-402.
- 12.- Bagni, N., Serafini Fracassini, D. (1979). Polyamines and plant tumors. *Italian J. Biochem.* 38(5):392-394.
- 13.- Bagni, N., Serafini Fracassini, D. (1981). Poliammine e crescita tumorale nelle piante. Apporto della ricerca di base al controllo della crescita neoplastica. *Idelson Napoli*. pp. 189-195.
- 14.- Bagni, N., Serafini Fracassini, D., Torrigiani, P. (1982). Polyamines and cellular growth processes in higher plants. In P.F. Wareing. Ed. *Plant Growth Substances*. Academic Press. London. pp 473-482.
- 15.- Bagni, N., Serafini Fracassini, D., Torrigiani, P. (1981). Polyamines and growth in higher plants. *Advances in polyamine research*. Vol 3. Ed. C.M. Calderera et al. Raven Press, N.Y. pp 377-388.
- 16.- Bagni, N., Torrigiani, P., Barbieri, P. (1981). Effect of various inhibitors of polyamines synthesis on the growth of *Helianthus tuberosus* *Medical Biology* 59:403-409.

- 17.- Bagni, N., Torrigiani, P., Barbieri, P., (1983). "In vitro" and "in vivo" effect of ornithine and arginine decarboxylase inhibitors in plant tissue culture. *Advances in polyamine research*. Vol 4. Ed. Bachrach V. et al. Raven Press. N.Y. pp. 409-417.
- 18.- Baker, S.R., Jones, L.H., Yon, R.J. (1983). Ornithine carbamoyltransferase activity and embryogenesis in carrot cell suspension culture. *Phytochem.* 22(10):2167-2169.
- 19.- Bey, P., Casara, P., Vevert, J.P., Metcalf, B. (1983). Synthesis of irreversible inhibitors of polyamine biosynthesis. *Methods in Enzymology*. Vol. 94. Academic Press pp. 199-206.
- 20.- Birecka, H., DiNolfo, T.E., Martin, W.B., Frohlich, M.W. (1984). Polyamines and leaf senescence in pyrrolizidine alkaloid-bearing Heliotropium plants. *Phytochem.* 23(5): 991-997.
- 21.- Bolkenius, F.N., Seiler, N. (1981). Acetyl derivatives as intermediates in polyamine catabolism. *Int. J. Biochem.* 13(3): 287-292.

- 22.- Canellakis, E.S., Heller, J.S., Kyriakidis, D.A. (1981). The interaction of ornithine decarboxylase with its antizyme. Advances in polyamine research Vol 3. Ed. C.M. Calderera et al. Raven Press. N.Y. pp. 1-13.
- 23.- Cheng, S.H., Kao, Ch.H. (1983). Localized effect of polyamines on chlorophyll loss. Plant & Cell Physiol. 24(8):1463-1467.
- 24.- Cohen, S.S. (1982). The polyamines as a growth industry. Fed. Proc. 41(14):3061-3064.
- 25.- Cohen, A.S., Popovic, R.B., Zalik, S. (1979). Effects of polyamines on chlorophyll and protein content, photochemical activity, and chloroplast ultrastructure of barley disc during senescence. Plant physiol. 64:717-729.
- 26.- Cohen, A.S., Zalik, S. (1978). Magnesium replacement by polyamines in higher plant cell-free polyphenylalanine synthesis. Phytochem. 17:113-118.
- 27.- Cohen, S.S. (1978). The function of the polyamines. Advances in polyamine research. Vol 1. Ed. R.A. Campbell et al. Raven Press. N.Y.

- 28.- Cohen, S.S. (1971) An introduction to the polyamines.
Prentice Hall, Englewood Clifs, N.J. pp. 1-179.
- 29.- Costa, G., Bagni, N. (1983). Effects of polyamines
on fruit-set of apple. Hort Sci. 18(1):59-61.
- 30.- Cracomo, O.J., Basso, L.C., Brasil, O.G. (1970).
Formation of N-carbamil putrescine from citrulline
in Sesamun. Phytochem. 9:1487-1489.
- 31.- Croker, S.J., Loeffler, S.T., Smith, T.A. (1983).
1,5-diazabicyclo [4.3.0.] nonane, the oxidation
product of spermine. Tetrahedron Letters 24(14):
1559-1560.
- 32.- Dai, Y., Kaur Sawhney, R., Galston, A.W. (1982).
Promotion by gibberellic acid of polyamines
biosynthesis in internodes of light-grown dwarf
peas. Plant Physiol. 60:103-105.
- 33.- Damuni, Z., Humphreys, J.S., Reed, L.J. (1984).
Stimulation of pyruvate dehydrogenase phosphatase
activity by poliamines. Biochem. Biophys. Res. Comm.
124(1):95-97.

- 34.- Dumas, E., Perdrizet, E., Vallée, J.C. (1981).
Evolution quantitative des acides aminés et amines
libres au cours de développement de diverses espèces
de *Nicotiana*. *Physiol. Vég.* 19(2):155-165.
- 35.- Dumortier, F.M., Flores, H.E., Shekhawat, N.P.,
Galston, A.W. (1983). Gradients of polyamines and
their biosynthetic enzymes in coleoptiles and roots
of corn. *Plant Physiol.* 72:915-918.
- 36.- Feirer, P.R., Mignon, G., Litvay, J.D. (1984).
Arginine decarboxylase and polyamines required for
embryogenesis in the wild carrot. *Science* 223(4643):
1433-1435.
- 37.- Flores, H.E., Galston, A.W. (1984). Osmotic stress
induced polyamine accumulation in cereal leaves. I.
Physiological parameters of the response. *Plant
Physiol.* 75:102-109.
- 38.- Flores, H.E., Galston, A.W. (1984). Osmotic stress
induced polyamine accumulation in cereal leaves. II.
Relation to amino acid pools. *Plant Physiol.* 75:
110-113.

- 39.- Flores, H.E., Galston, A.W. (1982). Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant physiol.* 69:701-706.
- 40.- Flores, H.E., Galston, A.W. (1982). Polyamines and plant stress: activation of putrescine biosynthesis by osmotic shock. *Science* 217:1259-1261.
- 41.- Friedman, R., Altman, A., Bachrach, U. (1982). Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl content. I. Effects of exogenous compounds and changes in endogenous polyamines content. *Plant physiol.* 70:844-848.
- 42.- Fuhrer, J., Kaur-Sawhney, R., Shih, L.m., Galston, A. (1982). Effects of exogenous 1,3-diaminopropane and spermine on senescence of oat leaves. II. Inhibition of ethylene biosynthesis and possible mode of action. *Plant Physiol.* 70:1597-1600.
- 43.- Gaspar, T., Kevers, C., Coumans, M., Penel, C., Greppin, H. (1984). Interaction of polyamines or their precursors with the calcium-controlled secretion of peroxidase by sugarbeet cells. *Experientia* 40:696-697.

- 44.- Hamana, K., Matsuzaki, S. (1979). Occurrence of sym-homospermidine in the Japanese newt, *Cynops pyrrhogaster*. FEBS letters 99(2):325-328.
- 45.- Heby, O. (1981). Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation. Differentiation 19:1-20.
- 46.- Heby, O., Gray, J.W., Lindle, P.A., Marton, J.L., Wilson, C.B. (1976). Changes in L-ornithine decarboxylase activity during the cell cycle. Biochem. Biophys. Res. Comm. 71(1):99-100.
- 47.- Heimer, Y.M., Mizrahi, Y., Bachrach, U. (1979). Ornithine decarboxylase activity in rapidly proliferating plant cells. FEBS lett. 104(1):146-148.
- 48.- Hirasawa, E. (1983). No influence of the embryonic axis on the development of diamine oxidase in pea cotyledons. Plant Physiol. 73:1062-1064.
- 49.- Hopkins, D., Manchester, K.L. (1982). Polyamines: molecules in search of a role?. South African J. Sci. 78:25-29.

- 50.- Jänne, J., Alhonen-Honigsto, L., Seppänen, P., Hölttä, E. (1981). Cellular compensatory mechanisms during chemically induced polyamine deprivation. *Advances in polyamine research*. Vol 3. Ed. C.M. Calderera et al. Raven Press. N.Y. pp. 85-94.
- 51.- Kaur-Sawhney, R., Altman, A., Galston, A.W. (1978). Dual mechanisms in polyamines-mediated control of ribonuclease activity in oat leaf protoplast. *Plant Physiol.* 62:158-160.
- 52.- Kaur-Sawhney, R., Flores, H.E., Galston, A.W. (1980). Polyamine-induced DNA synthesis and mitosis in oat leaf protoplasts. *Plant Physiol.* 65:368-371.
- 53.- Kaur-Sawhney, R., Shih, L., Cegielska, T., Galston, A.W. (1982). Inhibition of protease activity by polyamines. Relevance for control of leaf senescence. *FEBS Letters* 145(2):345-349.
- 54.- Kyriakidis, D. (1983). Effect of plant growth hormones and polyamines on ornithine decarboxylase activity during the germination of barley seeds. *Physiol. Plant.* 57:499-504.

- 55.- Lin, P.P.C. (1984). Polyamine metabolism and its relation to response of the aleurone layers of barley seeds to gibberellic acid. *Plant Physiol.* 74:975-983.
- 56.- Lin, P.P.C. (1984) Polyamine anabolism in germinating *Glycine max* (L.) seeds. Dynamics of cadaverine and putrescine formation in the embryonic axis. *Plant Physiol.* 76:372-380.
- 57.- Lin, P.P.C., Egli, D.B. Meckel, L. (1984). Polyamine titer in the embryonic axis and cotyledons of *Glycine max*(L.) during seed growth and maturation. *Plant Physiol.* 76:366-371.
- 58.- Malfatti, H., Vallée, J.C., Perdrizet, E., Carré, M., Martin, C. (1983). Acides aminés et amines libres d'explants foliaires du *Nicotiana tabacum* cultivés "in vitro" sur des milieux induisant la Rhizogenèse ou la caulogenèse. *Physiol. Plant.* 57:429-498.
- 59.- Malmberg, L.R., McIndoo, J. (1983). Abnormal floral development of a tobacco mutant with elevated polyamines levels. *Nature* 305(5935):623-625.

- 60.- Mamont, P.S., Danzin, C. (1981). "In vitro" and "in vivo" regulation of S-adenosil-L-methionine decarboxilase by polyamines. Advances in polyamine research Vol. 3. Ed. Caldarera et al, Raven Press. N.Y. pp. 123
- 61.- Méndez, J.D., Hicks, J.J. (1982). Las poliaminas y el sistema reproductor de la hembra. Gin. Obst. Mex. 50(302):157-164.
- 62.- Méndez, J.D., Hicks, J.J. (1983). Metabolismo y función de las poliaminas en las células vegetales. Rev. Soc. Quim. Mex. 27(4):169-173.
- 63.- Mohan Chaudhuri, M., Ghosh, B. (1984). Purification and characterization of diamine oxidase from rice embryos. Phytochem. 23 (2):241-243.
- 64.- Montague, M.J., Koppenbrik, J.W., Jaworski, E. (1970). Polyamine metabolism in embriogenic cells of *Daucus carota*. 1. Changes in intracellular content and rates of synthesis. Plant Physiol. 62:430-433.
- 65.- Morris, D.R. (1978). Polyamine function in rapidly proliferating cells. Advances in polyamine research. Vol. 1. Ed. Campbell et al. N.Y. pp. 105-115.

- 66.- Morris, D.R. (1978). Section introduction:
Biosynthesis of polyamines. Advances in polyamine
research. Vol 1. Ed. Campbell et al. Raven Press.
- 67.- Mukhopadhyay, A., Choudhuri, M.M., Sen, K., Ghosh,
B. (1983). Changes in polyamines and related enzymes
with loss of viability in rice seeds. Phytochem.
22(7):1547-1551.
- 68.- Naik, B.I., Srivastava, S.K. (1978). Effect of
polyamines on tissue permeability. Phytochem. 17:
1885-1887.
- 69.- Pegg, A.F., McCann, P.H. (1982). Polyamine metabolism
and function. Am. J. Physiol. 243 (Cell Physiol 12):
C 212 - C 221.
- 70.- Popovic, R.B., Kyle, D.J., Cohen, A.S., Zalik, S.
(1970). Stabilization of thylakoid membranes by
spermine during stress-induced senescence of barley
leaf disc. Plant Physiol. 64:721-726.
- 71.- Quintero, A. (1984). El cultivo de células vegetales
y su aplicación a la producción de compuestos con
actividad fisiológica. Rev. Soc. Quim. Mex.28(3):
114-118.

- 72.- Ramakrishna, S., Radhakantha Adiga, P. (1975).
Amine levels in *Lathyrus sativus* seedling during
development. *Phytochem.* 14:63-68.
- 73.- Sen, K., Ghosh, B. (1984). Effect of polyamines on
ribonuclease activity of rice (*Oryza sativa* L.).
Phytochem. 23 (8):1583-1585.
- 74.- Sen, K., Choudhuri, M.M., Ghosh, B. (1981). Changes
in polyamine content during development and
germination of rice seeds. *Phytochem.* 20(4):631-
633.
- 75.- Serafini-Fracassini, D., Alessandri, M. (1983).
Polyamines and morphogenesis in *Helianthus tuberosus*
explants. *Advances in polyamine research. Vol 4.*
Ed. Bachrach U. et al. Raven Press. N.Y. pp 419-426.
- 76.- Serafini-Fracassini, D., Bagni, N., Cionini, P.G.,
Bennici, A. (1980). Polyamines and nucleic acids
during the first cell cycle of *Helianthus tuberosus*
tissue after the dormancy break. *Planta* 148:332-
337.

- 77.- Serafini-Fracassini, D., Bagni, N., Torrigiani, P.
(1981). *Nicotiana glauca* x *Nicotiana glauca* x *Nicotiana glauca*
tumor hybrid: growth, morphology, polyamines and
nucleic acids "in vitro". *Can. J. Bot.* 58 (21):
2285-2293.
- 78.- Serafini-Fracassini, D., Torrigiani, P., Branca, C.
(1984). Polyamines bound to nucleic acids during
dormancy and activation of tuber cells of *Solanum*
tuberosum. *Physiol. Plant.* 60:351-357.
- 79.- Shish, L.M., Kaur Sawhney, R., Fuhrer, J., Samanta,
S., Galston, A.W. (1982). Effects of exogenous
1,3-diaminopropane and spermidine on senescence of
oat leaves, I. Inhibition of protease activity,
ethylene production, and chlorophyll loss as
related to polyamine content. *Plant Physiol.* 70:
1592-1596.
- 80.- Smith, T.A. (1983). Polyamine oxidase (oat seedlings).
Methods in Enzymology Vol. 94. Academic Press.
pp. 311-314.

- 81.- Smith, T.A. (1972). The physiology of the polyamines and related compounds. *Endeavour* 31(12):22-28.
- 82.- Smith, T.A. (1971). The occurrence, metabolism and function of amines in plants. *Biol. Rev* 46:201-241.
- 83.- Smith, T.A. (1970). Polyamine oxidase in higher plants. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 41(6): 1452-1456.
- 84.- Smith, T.A. (1970). Putrescine, spermidine and spermine in higher plants. *Phytochem.* 9:1479-1486.
- 85.- Smith, T.A., Best, G.R. (1977). Polyamines in barley seedlings. *Phytochem.* 16:841-843.
- 86.- Smith, T.A., Wilshire, G. (1975). Distribution of cadaverine and another amines in higher plants. *Phytochem.* 14:2341-2346.

- 87.- Speranza, A., Bagni, N. (1978). Products of L-(¹⁴C-carbamoyl) citrulline metabolism in *Helianthus tuberosus* activated tissue. Z. Pflanzenphysiol. 88(2):163-168.
- 88.- Speranza, A., Calzoni, G.L., Bagni, N. (1984). Evidence for a polyamine-mediated control of ribonuclease activity in germinating apple pollen. *Physiol. Vég.* 22(3):323-331.
- 89.- Speranza, A., Calzoni, G.L., Bagni, N. (1983). Effect of exogenous polyamines on "in vitro" germination of apple pollen. *Pollen: Biology and implications for plant breeding.* pp 21-27.
- 90.- Srivastava, S.K., Raj, N., Naik, B.I., (1981). Polyamine metabolism during aging and senescence of pea leaves. *Indian J. Exp. Biol.* 19(5):437-440.
- 91.- Srivastava, S.K., Vashi, D.J., Naik, B.I. (1983). Control of senescence by polyamines and guanidines in young and mature barley leaves. *Phytochem.* 22 (10):2151-2154.

- 92.- Sunkara, P.S., Ramakrishna, S., Nishioka, K., Rao, P.N. (1981). The relationship between levels and rates of synthesis of polyamines during mammalian cell cycle. *Life Sci.* 28:1497-1506.
- 93.- Suttle, J. (1981). Effect of polyamines on ethylene production. *Phytochem.* 20(7):1477-1480.
- 94.- Tabor, C.W., Tabor, H. (1976). 1,4-diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine. *Ann. Rev. Biochem.* 45:285-306.
- 95.- Tabor, C.W., Tabor, H. (1984). Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* 53:749-790.
- 96.- Torrigiani, P., Serafini-Fraccassini, D. (1980). Early DNA synthesis and polyamines in mitochondria from activated parenchyma of *Helianthus tuberosus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 97(4):353-359.
- 97.- Vallée, J.C., Vansuyt, G., Négrel, J., Perdriest, E., Prévost, J. (1983). Mise en évidence d'amines liées à des structures cellulaires chez *Nicotiana tabacum* et *Lycopersicon esculentum*. *Physiol. Plant.* 57:143:148.

- 98.- Veluthambi, K., Poovaiah, B.W. (1984) Polyamine stimulated phosphorylation of proteins from corn (*Zea mays* L.) coleoptiles. *Biochem. Biophys. Res Comm.* 122(3):1374-1380.
- 99.- Villanueva, V.R. (1981). Polyamines in *Euglena gracilis*. *Advances in polyamine research. Vol 3* Ed. C.M. Calderera et al. Raven Press, N.Y. pp: 389-395.
- 100.- Villanueva, V.R., Adlakha, R.C., Cantera Soler, A.M. (1978). Changes in polyamine concentration during seed germination. *Phytochem.* 17:1245-1249.
- 101.- Young, N.D., Galston, A.W. (1983). Are polyamines transported in etiolated peas?. *Plant Physiol.* 73:912-914.
- 102.- Young, D.H., Kauss, H. (1983). Release of calcium from suspension-cultured *Glycine max* cells by chitosan, other polycations, and polyamines in relation to effects on membrane permeability. *Plant Physiol.* 73:698-702.