



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“CAMBIO EN LA CONCENTRACION
DE BETACIANINAS BAJO ESTRES
HIDRICO Y SALINO EN *Amaranthus sp.*”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
MARIA ISABEL VELAZQUEZ MORALES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1990





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.

Abreviaturas	iv
Lista de Figuras.	v
I INTRODUCCION.	1
II OBJETIVOS.	4
III PREGUNTAS E HIPOTESIS.	5
IV ANTECEDENTES.	7
4.1 El Amaranto	
4.1.1 Taxonomía	7
4.1.2 Características morfológicas.	7
4.1.3 Distribución geográfica en Mexico.	9
4.1.4 Estudios fisiológicos.	10
4.1.5 Estudios ecológicos.	11
4.1.6 Empleo.	12
4.1.7 Cultivo.	14
4.2 Los Pigmentos En Las Plantas.	15
4.2.1 Las Betacianinas, un grupo de pigmentos vegetales.	15
4.2.2 Estructura química de las Betacianinas.	16
4.2.3 Biogénesis de las Betacianinas.	17
4.2.4 Síntesis de Betacianinas y su control.	23
A) Condiciones hídricas.	23
B) Temperatura.	24
C) Luz.	24
D) K^+ en relación con fitocromo y citoquininas.	25
E) cAMP, GA3 y Cinetinas.	26
F) Etileno y Benciladenina.	27
G) Oxígeno.	27
H) CO_2 .	27
I) PH.	28
4.2.5 Estabilidad de las Betacianinas.	28
4.2.6 Incidencia y función de las Betacianinas en la Naturaleza.	28
4.3 El Agua En Las Plantas.	
4.3.1 Relaciones hídricas suelo-planta-atmósfera.	31

4.3.2	Relaciones hídricas intra y extracelulares.	33
4.3.3	El estrés de agua en los vegetales.	35
4.3.4	El potencial de agua, un índice del estrés hídrico.	39
4.3.5	El estrés de agua y la toxicidad iónica.	40
4.3.6	Medición del estrés hídrico de la planta.	43
V MATERIALES Y METODOS.		
5.1	Material Biológico.	45
5.2	Primera Etapa.	45
5.2.1	Elección y crecimiento del material biológico.	45
5.2.2	Preparación de las muestras para su análisis.	50
5.2.3	Análisis de las muestras y cuantificación de - Betacianinas en estas.	50
5.3	Segunda etapa.	
5.3.1	Elección y crecimiento del material biológico.	51
5.3.2	Toma de muestras y preparación de las mismas para su análisis.	53
5.3.3	Análisis y cuantificación de Betacianinas.	54
5.3.4	Medición del contenido relativo de agua en el material vegetal.	54
VI RESULTADOS Y DISCUSION.		
6.1	Resultados correspondientes a la primera etapa trabajo.	57
6.1.1	Efecto del estrés hídrico en la concentración de Betacianinas en plantas del fenotipo rojo con desarrollo completo en invernadero.	
6.1.2	Efecto del estrés en la concentración de Betacianinas durante el trasplante de plantas del fenotipo rojo de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> L. tipo Arizona con desarrollo invernadero-campo.	59
6.1.3	Efecto del estrés hídrico en la concentración de Betacianinas en las plantas del fenotipo verde con desarrollo completo en invernadero.	64
6.1.4	Efecto del estrés durante el trasplante sobre la concentración de Betacianinas en las plantas del fenotipo verde de <i>A. hypochondriacus</i> L. tipo Arizona con desarrollo invernadero-campo.	65

6.1.5	Comparación del efecto del estrés hídrico sobre la concentración de Betacianinas entre los feng tipos rojo y verde de las plantas de <i>A. hypochondriacus</i> L. tipo Arizona.	
6.2	Resultados Correspondientes a la Segunda Etapa	
6.2.1	Cambios en el contenido relativo de agua (CRA).	74
6.2.2	Efecto del estrés hídrico inducido mediante soluciones de NaCl 300 mM y PEG (6000) 4% sobre la concentración de Betacianinas en tallos y láminas foliares de plantas completas de <i>A. hypochondriacus</i> tipo mercado.	78
6.2.3	Influencia del estrés hídrico, osmótico y salino inducido mediante soluciones de NaCl 300mM y PEG (6000) 4% sobre el desarrollo fisiológico de las plantas de <i>A. hypochondriacus</i> L. tipo mercado.	89
VII	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.	97
VIII	REFERENCIAS	99
	Apéndice 1	104
	Resumen.	105

ABREVIATURAS

ABA	Acido Abscisico.
Bc	Betacianinas.
C ²	Carbono 2.
C ¹²	Carbono 12.
cAMP	Adenosin monofosfato ciclico.
CRA	Contenido relativo de agua.
DSA	Déficit de Saturación de Agua.
GA3	Acido giberélico.
mm	Milimolar.
msnm	Metros sobre el nivel del mar.
NaCl	Cloruro de sodio.
PAL	Fenilalaninamonoliasa.
PEG	Polietilenglicol.
Pi	Peso inicial
Ps	Peso seco.
Pt	Peso de turgencia.
ψ	Potencial de agua o potencial hídrico.
ψ ap.	Potencial de apoplasto.
ψ cel.	Potencial celular.
ψ cit.	Potencial de citoplasma.
ψ m.	Potencial mátrico.
ψ π	Potencial osmótico.
ψ p.	Potencial de presión.
ψ sol.	Potencial de solutos.
ψ vac.	Potencial vacuolar.
pp.	Precipitación.
R	Tasa de crecimiento relativo.

LISTA DE FIGURAS.

FIG		PAG.
1	Distribución original en América del Género <i>Amaranthus</i> (Granados, 1986)	8
2	Fórmula general de las Betalainas, Betacianinas y Amarantina. (Giudeci, 1975).	18
3	Estructura general del ácido betalámico y ciclodopa (Elliott, 1979b).	19
4	Estructura de los aglicones (a) Bdetanidina, (b) Isobetanimidina.	20
5	Biogénesis general de las Betacianinas (Murillo, 1990)	22
6	Catabolismo espontáneo y enzimático de las Betacianinas. (Elliott, 1979d).	29
7	Diagrama de "Hofler" para una célula foliar idealizada. (Fitter & Hay, 1987).	34
8	Influencia del estrés de agua sobre la fisiología de plantas mesofíticas. (Hsiao, <u>et al</u> , 1976 citado en Fitter, 1987).	41
9	Diagrama metodología.	
10	Cambios en la concentración de Betacianinas en plantas del fenotipo rojo de <i>A. hypochondriacus</i> L. tipo - Arizona durante el período en el cual se indujo el estrés hídrico mediante la disminución gradual del suministro de agua.	61
11	Cambios en la concentración de Betacianinas en plantas del fenotipo rojo de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> L. tipo Arizona bajo estrés hídrico. Trasplante invernadero -invernadero.	62
12	Cambios en la concentración de Betacianinas en plantas del fenotipo rojo de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> L. tipo Arizona bajo estrés hídrico. Trasplante invernadero -campo.	63

- 13 Cambios en la concentración de Betacianinas en plantas del fenotipo verde de *Amaranthus hypochondriacus* L. durante el período en el cual se indujo el estrés mediante la disminución gradual del suministro de agua. 67
- 14 Cambios en la concentración de betacianinas en plantas del fenotipo verde de *Amaranthus hypochondriacus* L. tipo Arizona bajo estrés hídrico. Trasplante invernadero - invernadero. 68
- 15 Cambios en la concentración de betacianinas en plantas del fenotipo verde de *Amaranthus hypochondriacus* L. tipo Arizona bajo estrés hídrico. Trasplante invernadero -campo. 69
- 16 Variación en el CRA en hojas de plantas completas de - *A. hypochondriacus* L. tipo mercado de 14 a 62 días 77
- 17 Cambios en la concentración de Betacianinas en tallos de plantas de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado del día 14 al 64. 91
- 18 Cambios en la concentración de Betacianinas en tallos-deplantasde *A. hypochondriacus* L. tipo mercado del día 31 al 64. 82
- 19 Cambios en la concentración de Betacianinas en hojas-de plantas de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado del-día 14 al 64. 83
- 20 Cambios en la concentración de Betacianinas en hojas de plantas de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado del-día 31 al 64. 84
- 21 Efecto del estrés hídrico en el desarrollo fisiológico de plantas de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado. Cambios en el peso de los tallos. 93
- 22 Efecto del estrés hídrico en el desarrollo fisiológico de plantas de *A. hypochondriacus* L! tipo mercado. Cambios en el peso de las láminas foliares. 94
- 23 Crecimiento relativo de tallos de plantas de *A. hypochondriacus* L. bajo estrés hídrico. 95
- 24 Crecimiento relativo de las láminas foliares de plantas de *A. hypochondriacus* L. bajo estrés hídrico. 96

INTRODUCCION

Todos los seres vivos, objeto de estudio de la Biología realizan y regulan una serie de funciones que les permiten vivir y desarrollarse de la mejor forma posible en el medio en que se encuentran. Tales funciones son el resultado que sobre los organismos ejercen la interacción de factores tanto internos (turgencia celular, estado de desarrollo) como externos (condiciones de luz, agua, temperatura).

Particularmente los vegetales, organismos autótrofos, base y elemento esencial en las cadenas tróficas, han desarrollado una serie de mecanismos los cuales les han permitido hacer frente a las condiciones ambientales así como a las restricciones que les implica el ser sésiles. En general esta serie de funciones es posible evidenciarlas mediante cambios morfofisiológicos de los organismos tales como presencia de tricomas y engrosamientos foliares además de que a nivel bioquímico se sintetizan una serie de metabolitos o productos secundarios, entre los cuales se encuentran sustancias que resultan tóxicas a sus patógenos o depredadores, sustancias aromáticas, además de otras. que les confieren una pigmentación determinada. Estas últimas han sido implicadas generalmente en la atracción de polinizadores, pero en general se desconoce gran parte de su funcionamiento (Harbone, 1988).

Se ha determinado que la pigmentación que se presenta en los vegetales se debe a una amplia gama de compuestos químicos y que éstos pueden ser afectados por factores como agua, luz, temperatura y otros.

Un ejemplo de tales pigmentos vegetales son las Betacianinas compuestos nitrogenados que se encuentran casi exclusivamente en miembros del Orden Centrospermae. Las betacianinas confieren a los vegetales que las contienen una coloración rojo violeta.

Aunque las primeras evidencias de estos metabolitos data de 1860, no es sino hasta 1960 cuando se intensifica su estudio, que a decir verdad, ha sido limitado en comparación al de otros pigmentos vegetales como el de las antocianinas y las clorofilas.

Algunos autores confieren una importancia particular a las Betacianinas ya que indican que, por una parte pueden emplearse como elemento clave en el estudio de la filogenética de las plantas que las contienen, y por otra, debido al intenso color rojo que proporciona el metabolito, es posible que éste haya sido objeto de una marcada selección.

Mediante los trabajos realizados se denota que la importancia de las Betacianinas no debe radicar únicamente en su aspecto químico, dada su estructura su biogénesis y síntesis ya importantes por sí solas, sino que su estudio se debe ampliar a otras ciencias.

En el equipo de trabajo dirigido por el Dr. Ezequiel Murillo en el cual se efectuó el presente estudio, se tiene interés en realizar investigaciones que relacionen aspectos Bioquímicos, Fisiológicos y Ecológicos lo cual permita tener una perspectiva más objetiva del papel que desempeñan ciertos metabolitos secundarios en las plantas. En particular es de interés el estudio de las Betacianinas de las que en general, se han realizado pocos estudios que las relacionen con su posible papel en la

Naturaleza.

Asimismo, debido a que en forma natural, las plantas en ocasiones se encuentran sometidas a condiciones adversas como la baja disponibilidad de agua, cualquiera que sea su origen, el presente trabajo tiene por finalidad el estudio de las Betacianinas y su relación con un aspecto tan importante como es el estatus hídrico de la planta. La especie vegetal seleccionada para tal investigación fue *A. hypochondriacus* L., planta C4 de cuyo cultivo y desarrollo, actualmente se realizan también importantes estudios debido a su potencial alimenticio e industrial.

II OBJETIVOS.

A través de la realización del presente trabajo se pretendió a nivel general:

"Determinar el cambio en la concentración de Betacianinas en plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. bajo estrés hídrico y salino".

Los objetivos particulares de esta investigación fueron:

1.- Determinar los cambios en la concentración de Betacianinas en dos fenotipos (rojo y verde) de plantas adultas de *A. hypochondriacus* L. tipo Arizona bajo efecto de estrés hídrico.

2.- Observar los cambios en la concentración de Betacianinas en dos fenotipos (rojo y verde) de plantas adultas de *A. hypochondriacus* L. tipo Arizona sometidas al estrés hídrico inducido por trasplante.

3.- Determinar los cambios de la concentración de Betacianinas en plantas jóvenes de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado, bajo estrés hídrico inducido mediante una solución de NaCl 300 mM .

4.- Determinar los cambios en la concentración de Betacianinas en plantas jóvenes de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado, bajo estrés hídrico inducido mediante una solución de PEG (6000) 4%.

5.- Relacionar los cambios en la concentración de Betacianinas, estatus hídrico y desarrollo fisiológico de plantas jóvenes de *A. hypochondriacus* L. tipo mercado sometidas a estrés hídrico y salino.

III PREGUNTAS E HIPOTESIS.

Al plantear los objetivos anteriores en éste trabajo y realizar una serie de experimentos para alcanzar el logro de los mismos, se pretendió dar respuesta a preguntas como las siguientes:

a) Si se tiene una sola población pero en esta existen dos fenotipos (rojo y verde)

¿El estrés de agua será capaz de inducir la síntesis de Betacianinas en las plantas del fenotipo verde?

¿El estrés de agua actuará de la misma forma en el fenotipo rojo que en el verde?

b) Ya que en la práctica cultural del cultivo del Amaranto, generalmente se realiza un trasplante fue importante tratar de responder si:

¿Existe una relación entre el estrés por trasplante y la cantidad de Betacianinas que se presentan durante tal evento?

c) Ya que el estrés de agua en los vegetales es un fenómeno que se presenta frecuentemente en las plantas de diferentes zonas debido a la carencia de agua en los suelos lo cual induce la acumulación de iones :

¿En plantas de *A. hypochondriacus* L. qué tan semejantes o diferentes resultan los daños ocasionados por efectos de iones salinos (NaCl) y por agentes osmóticos externos (PEG)?

En relación con lo anterior :

¿Qué efecto tiene el estrés hídrico, osmótico y salino sobre la síntesis de Betacianinas.?

d) Dado que el estrés hídrico determina cambios importantes en el funcionamiento fisiológico y bioquímico de la planta:

¿Hasta qué grado el estrés producido mediante NaCl 300 mM y PEG (6000) 4% pueden afectar las condiciones y desarrollo fisiológico y morfológico de la planta.?

IV ANTECEDENTES.

4.1 EL AMARANTO.

4.1.1 TAXONOMIA.

El género *Amaranthus* L (Fam. Amaranthaceae) del Orden Centrospermae, comprende alrededor de 70 especies extensamente distribuidas. De esas , 60 son originarias de América (Sauer , 1967 citado en Alejandre , 1986). En la figura 1 se muestra la distribución original en América del Género *Amaranthus* (Granados,1986).

Desde el punto de vista taxonómico, se ha intentado diferenciar a las distintas especies del género *Amaranthus* con base a la pigmentación de la planta, proporción de las estructuras pistiladas y a la forma de crecimiento, sin embargo, el carácter para la pigmentación es segregado entre poblaciones, y existe una plasticidad de la forma de crecimiento la cual depende de la duración del día, así como de otras variables ambientales. Por lo tanto, ya que la clasificación taxonómica de este grupo se basa en gran parte en las características antes mencionadas, se considera al Género como complicado (Mapes, 1986)

4.1.2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS.

En particular *Amaranthus hypochondriacus* es una planta angiosperma, dicotiledonea, herbacea., anual, que al madurar alcanza de 1.5 a 2 m de altura promedio, su tallo es grueso, ramificado desde la base, con estrías longitudinales. Tiene hojas largamente pecioladas y ovaladas de 15 a 18 cm de ancho. Son plantas monoicas con inflorescencias terminales tipo tirso

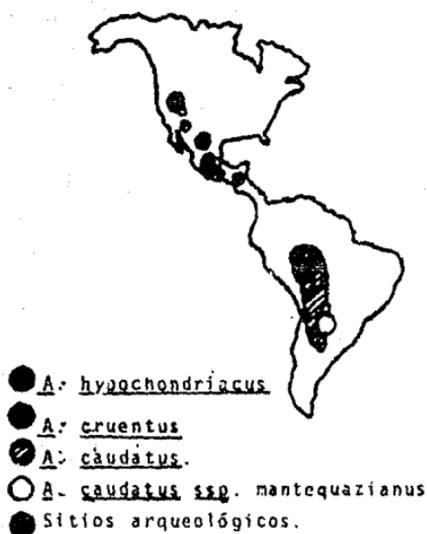


Figura 1.- Distribución Original en América del Género,
 Amanthus (Granado, 1986).

panoja piramidal con longitud de 50 a 100 cm, abundantes flores femeninas y escasas masculinas (en promedio 250 femeninas por cada masculina) envueltas por una bractea pigmentada. En cada flor se forma una pequeña capsulita que al abrirse transversalmente muestra su contenido de una sola semilla, (cada planta produce hasta 500 000 semillas) (Granados, 1986).

4.1.3 DISTRIBUCION GEOGRAFICA EN MEXICO.

Latitudinalmente, en nuestro país, el Amarantho se distribuye desde los 16° a los 28°, es decir, aproximadamente desde los estados de Tabasco, Chiapas, parte de Campeche, Yucatán, Guerrero y Oaxaca en la parte sur, hasta Baja California Norte, Sonora, Chihuahua, Coahuila y Nuevo León en el norte del país.

Altitudinalmente al Género *Amaranthus* se le puede localizar en niveles muy contrastantes, pues lo mismo se le encuentra desde los 100 m. sobre el nivel del mar, que a 2800 msnm. (Reyna, 1986).

En cuanto a la temperatura, ha mostrado un buen desarrollo en lugares muy cálidos con temperatura de 29° y uniformes durante todo el año como (en Atoyac, Gro.), hasta en localidades templadas (Tulyehualco y Milpa Alta, D.F.) con temperatura media anual de 14°, inviernos definidos y presencia de heladas tempranas que afectan principalmente al follaje, pero poco al grano (Reyna, 1986).

Respecto a la precipitación, se ha observado que se cultiva en condiciones de temporal aún en sitios con menos de 400 mm de lluvia al año y recibidas casi exclusivamente durante el verano

(de mayo a octubre), pero es factible encontrarlo también en zonas donde la precipitación es más abundante (p. ej. en algunas localidades de Oaxaca) superiores a 1300 mm.

Referente al clima, es posible mencionar que al Género *Amaranthus* se le cultiva en los climas calientes y húmedos (Koppen, 1984, citado en Reyna, 1986) y que García, 1964 adoptó y modificó particularmente para México como Awo(w)(i')g, es decir, calientes con temperatura media anual mayor de 22°, los más secos de los subhúmedos. También es frecuente que se le cultive en climas semicálidos (A)C, aquéllos de transición entre los calientes y los templados, o bien en climas C(w)(w)b, templados con temperatura media anual entre 12° y 18°. Por último, cabe señalar que se han obtenido cosechas en sitios con climas B (secos) (Alejandre y Gómez, 1981 citado en Reyna, 1986).

4.1.4 ESTUDIOS FISIOLÓGICOS.

Se han analizado parámetros de uso de agua en el amaranto. Por ejemplo, del Río, 1988 encontró que el Amaranto presenta su punto de marchitez permanente a 37% de CRA y de daño celular en 42%.

Se han realizado algunos estudios sobre fenómenos fisiológicos como el proceso para acelerar la germinación en tiempo frío y para obtener mayor energía o un mayor desarrollo inicial de la planta, así como los procesos físicos y químicos involucrados en la escarificación empleando luz roja (Sumar, 1986).

La vernalización (inducción por frío) a 4°C, o el tratamiento de semillas en una solución de Nitrato de Potasio 0.2%, favorece

la germinación (Sumar, 1986).

Por otra parte, mediante los estudios realizados por Suárez, 1984 (citado en Suárez, 1986b), es posible denotar la importancia de conocer el comportamiento de las plantas durante el día, para poder programar las fechas de siembra que más convengan ya que la floración del Amaranto es controlada por el fotoperíodo.

4.1.5 ESTUDIOS ECOLOGICOS.

El Amaranto es una planta mesofítica que presenta una rápida toma de agua para el restablecimiento de la turgencia de sus hojas, lo que se efectúa en aproximadamente 20 minutos (Valenzuela, 1989).

Las ventajas ecológicas que colocan al Amaranto ("alegría") como un buen cultivo, se apoyan en la característica fisiológica de presentar la ruta metabólica fotosintética C4 que corresponde a plantas con características de rápido crecimiento con particular eficiencia para la toma de nitrógeno y un uso óptimo del agua. Amaranto significa "El que no se marchita" (Trinidad, 1986).

La planta tiene una "plasticidad fenotípica", pues adapta su hábito al medio que le rodea y puede crecer en condiciones de pobreza ambiental (por ejemplo, baja disponibilidad de nutrimentos, agua, luz) como una planta pequeña que puede alcanzar la madurez y produce semillas (Márquez, 1986).

Mediante estudios realizados en el campo, se ha observado que al aumentar la densidad de población en el cultivo de amaranto, las ramificaciones disminuyen y por tanto, el número de panojas laterales (Trinidad, 1986).

Con respecto a la polinización de los amarantos, ésta se

realiza característicamente por el viento, aunque presenta inflorescencias de color muy llamativo el cual puede funcionar como posible atracción para los polinizadores (Granados, 1986).

Referente a las principales plagas y enfermedades de que ésta planta es objeto, Grubbens y Sloten, 1981 y Gruben, 1975 (citados en Espitia, 1986) mencionan entre los insectos a la chinche Lygus lyneolaris, el barrenador del tallo Lixus trunculatus, Hymenia necularis, Cletus sp y Aspavia sp. Además señalan al nemátodo Meloidyne icognita, como un agente el cual causa graves trastornos en la planta. Por otra parte se indica que la producción húmeda Chenophora cucubitarum el "damping of", causado por Pythium aphaniderantum y la raya blanca originada por Albuglabliti son enfermedades susceptibles de encontrarse en el cultivo de esta planta (Grubben 1975 citado en Espitia, 1986a).

4.1.6 EMPLEO.

El Códice Florentino (citado en Velasco, 1986) es la fuente histórica que más información proporciona del Amaranto durante la época prehispánica, en que ya se realizaba su cultivo en nuestro país.

Nuestros antepasados prehispánicos cultivaban la "alegría" (Amaranthus hypochondriacus) para uso alimenticio, colectando principalmente sus hojas tiernas que consumían como verdura fresca, aunque también la utilizaban como ornamento, forraje animal, usos medicinales, en rituales y como colorante.

El mismo códice (Vol. I, Cap. 1, libro 30, foja 4) , en su capítulo sobre el principio de los dioses señala : "para celebrar la fiesta de Panquetzaltli, en honor de Huitzilopochtli, tomaban

semillas de bledos, las limpiaban y molfan delicadamente para que estando la harina, amazabanla y con ella hacían el cuerpo del dios"

Se dice que Huitzilopochtli ordenó que se le moldeara su cuerpo con una especie de gusano llamado "ixcahuitl o ezcahuitl" que de acuerdo con Molina, es "cosa de sangre resaltada". Tal vez ello motivó a que se escogiera el amaranto para hacer el cuerpo del dios, por el rojo de la panoja en su madurez, permitiendo asociarlo con el rojo del ixcahuitl (Velasco, 1986). El uso del amaranto para la obtención de colorantes es importante aún, tanto para varios grupos étnicos como los Yaquis, Purepechas, y Seris en nuestro país, como para pueblos del suroeste de Estados Unidos, que lo emplean con fines ceremoniales, como los Zuñi y los Hopy, quienes relacionan el color rojo del amaranto con el fuego, el peligro y los puntos cardinales (Mapes, 1986). Alrededor de Cajamarca en el norte de Perú y en el Ecuador Andino también es utilizado actualmente como colorante de bebidas y comidas. En la India, el amaranto es empleado para resguardar de daños ocasionados al maíz por los pájaros, sembrando la planta de vivos colores sobre los bordes de las parcelas (Granados, 1986).

En la evolución de las especies domesticadas se ha involucrado el tamaño de la planta completa y en particular el de su inflorescencia y lo llamativo de su pigmentación, es decir que, desde el punto de vista ecológico-evolutivo ha existido una selección artificial.

En la variabilidad fenotípica de los amarantos cultivados se ha determinado que hay por lo menos 3 genes que gobiernan las

diferencias de color en la semilla (Hauptli, 1986). La amplia variación de colores, su ubicación en los distintos órganos y su expresión en diferentes estados de desarrollo, son heredados monogénicamente en ocasiones sin seguir un patrón definido. Los tipos de coloración son estudiados actualmente para descubrir si son resultado de elementos transmisibles, pues de ser así, podrían ser importantes en la transferencia de genes entre especies, usando técnicas de ingeniería genética (Hauptli, 1986).

A partir del panorama expuesto aquí, se puede observar que en la historia de los amarantos hay conexiones importantes con su color, tanto en sus semillas, como en sus partes vegetativas.

4.1.7 CULTIVO.

Los métodos de cultivo del amaranto, no han variado mucho de aquéllos realizados por varios grupos establecidos en México durante la época prehispánica. En Tulyehualco, en la delegación Xochimilco D.F., los campesinos realizan el cultivo utilizando el procedimiento siguiente: preparan un almácigo que colocan en una esquina de una parcela en que el campesino siembra maíz. La época adecuada para su establecimiento es abril, siguiendo la técnica de chapines. Los agricultores acostumbran extender una capa de suelo lodoso y batido sobre una superficie de 1 a 1.20 m de ancho por 5 o 7 m de largo, la que alisan perfectamente, trazan líneas con un cordel, cortan con un cuchillo y ensemillan. Luego de preparar el suelo, lo cubren de estiércol y lo dejan así hasta que emergen las plantulas, posteriormente se barre el estiércol y una vez que las plantas crecen en los chapines y alcanzan una altura de 15 o 20 cm, son trasplantados. Esta técnica permite a las plantulas

soportar el estrés que ocasiona el trasplante (Gómez, 1986).

Los campesinos esperan el establecimiento de la temporada de lluvias para realizar el trasplante, mismo que se efectúa en lomeríos semiáridos con suelo arenoso y bastantes rocas volcánicas (Gómez, 1986).

4.2 LOS PIGMENTOS EN LAS PLANTAS .

El color en las plantas se debe en gran parte a los pigmentos presentes en los cloroplastos y vacuolas celulares de sus diferentes tejidos. Los colores producidos por la reflexión y refracción de la luz de las superficies celulares tan importantes en el reino Animal, aparentemente no lo es en las plantas (Harbone, 1988).

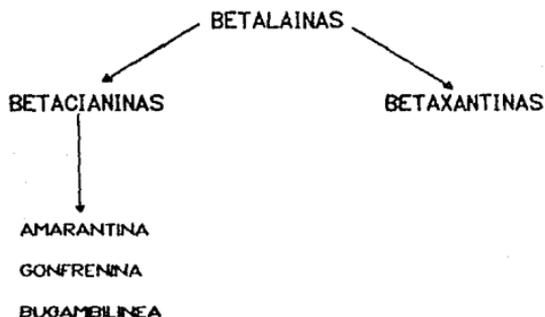
Cabe señalar que la mayoría de los estudios realizados sobre los colores presentes en las plantas se han efectuado más ampliamente desde un punto de vista genético y bioquímico, sin embargo, no existen investigaciones sobre los pigmentos vegetales que interrelacionen los aspectos antes mencionados y aún menos que integren los aspectos fisiológicos y ecológicos.

No obstante, tomando como base a los factores genético-bioquímicos se ha planteado que el grupo más importante de pigmentos vegetales lo constituyen los flavonoides y carotenos, sin embargo otros grupos como el de las clófilas, las quinonas y los alcaloides betalamicos (Betalainas) constituyen pigmentos no menos importantes aunque si menos estudiados (Harbone, 1988).

4.2.1 LAS BETACIANINAS, UN GRUPO DE PIGMENTOS VEGETALES.

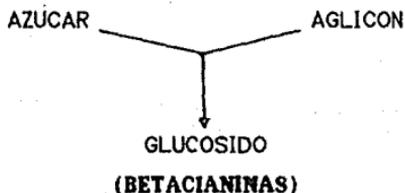
El término Betalaina (1) es empleado para denominar a un grupo de pigmentos alcaloides hidrosolubles de las vacuolas de las

flores, los frutos, las hojas y los tallos en los miembros del Orden Centrospermae. Las Betalainas (1) incluyen a las Betaxantinas que pigmentan de amarillo y a las Betacianinas (2) que originan una coloración rojo violeta, entre estas se encuentran las amarantinas (2a) , (Salisbury, 1985) Fig. 2 (Mabry, 1980).



4.2.2 ESTRUCTURA QUIMICA DE LAS BETACIANINAS.

Las betacianinas son compuestos nitrogenados cuya constitución química esta integrada por dos miembros: un azúcar y un aglicón, originando así un glucósido.



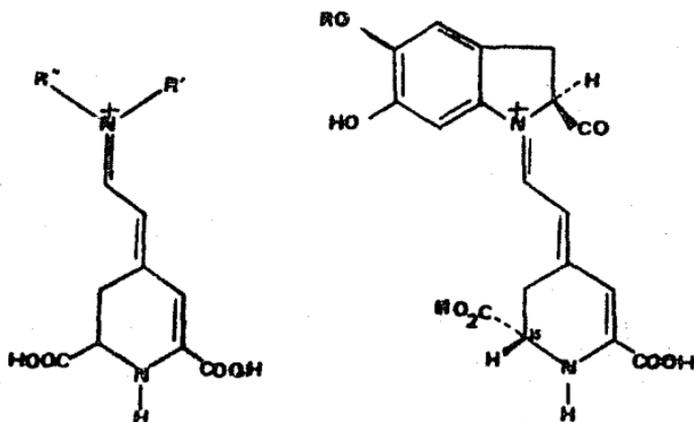
El aglicón esta compuesto de dos derivado de la tirosina : el ácido betalámico (a) y la ciclodopa (b) (Figura 3), ambos se unen formando una base de Schiff, la reacción puede ser espontanea o llevarse a cabo enzimáticamente, la reacción reversible puede ser también espontanea o enzimática. El producto de esta reacción es la betanidina (aglicón) (fig 4). La betanidina puede estar glucosilada en el hidroxilo 5 o 6. En el caso de la amarantina está glucosilado en el hidroxilo 5 con una glucosa en unión $\beta(2\rightarrow1)$. Se ha sugerido que la carga del ácido glucurónico interacciona con la carga de la amina cuaternaria en forma de una bisagra. La glucosa a su vez puede unir fenoles en el carbono 6, esta unión puede existir con la insaturación de la cadena lateral del ácido cinnámico o de sus derivados.

Piattelli, et al, 1964 (citado en Mabry, 1980) ha referido que la amarantina e isoamarantia han sido obtenidas de hojas de *Amaranthus tricolor* y que la hidrólisis de amarantina e isoamarantina con β -glucosidasa dió betanidina e isobetanidina respectivamente (Mabry, 1980). Sin embargo, no es claro si la isobetanidina es un compuesto natural o solamente una inversión de la Betanidina durante los procesos de extracción.

4.2.3 BIOGENESIS DE LAS BETACIANINAS.

Teóricamente las Betacianinas pueden ser formadas in vivo de acuerdo con un patrón que el Dr. Murillo basandose en los trabajos realizados por Mabry, 1980; Piatelli, 1964b, plantea y el cuales expuesto en la figura 5.

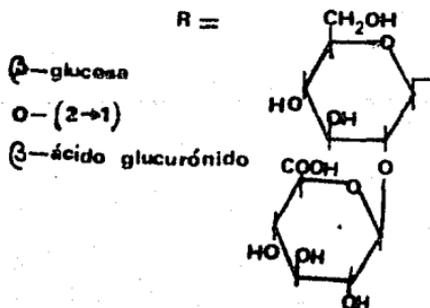
Fig. 2.- Fórmula general de las Betalainas, Betacianinas y Amarantina (Giudici, 1975).



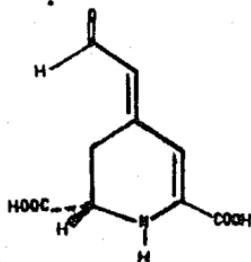
(1) Betalainas

(2) Betacianinas
R = H

(2a) Amarantina



(a) Ac. Betalámico



(b) Ciclodopa

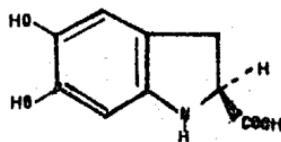


Fig. 3.- Estructura general del ácido Betalámico (a) y la Ciclodopa (b) (Elliott, 1983).

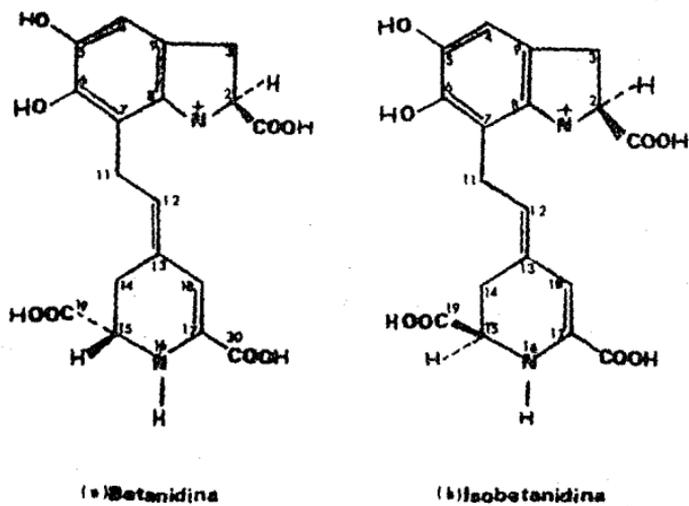


Figura 4. - Estructura de los aglicones (a) Batanidina, (b) Isobetanidina. (Mabry, 1980)

El origen de todos los carbonos de la Betacianinas es la glucosa. La glucosa 6-fosfato se transforma en ácido shiquímico por la ruta del ciclo de las pentosas y la ruta de los amonocidos aromáticos. El ácido shiquímico se convierte en ácido arogénico que es el precursor en plantas de la fenilalanina y la tirosina. La fenilalanina se desamina por acción de la fenilalaninamonoliasa para convertirse en ácido cinnámico. El ácido cinnámico es el precursor del resto de los fenoles. Por otro lado, la tirosina oxida su ciclo para formar la dihidroxi fenil alanina (DOPA), ésta se cicliza para formar ciclodopa. Esta molécula probablemente se glucosila en este momento. El ácido Betalámico y la Ciclodopa forman una base de Schiff seguida de una reacción enzimática para formar la Betanidina glucosilada. Finalmente la glucosa se fenoliza con uno o más fenoles. (Fig. 5).

Se desconoce la enzima de la transformación de la DOPA hasta la síntesis de la Betanidina glucosilada. Las reacciones se conocen por el uso de precursores radioactivos.

La única enzima conocida es la enzima que hidroliza la Betanidina en Acido Betalámico y ciclodopa glucosilada.

Por otra parte, es importante señalar que la conversión de L-DOPA a ácido betalámico y sus condensaciones subsecuentes con aminas o aminoácidos para producir betalainas, es conocida únicamente para las Centrospermas y los Hongos. Sería interesante realizar estudios de como esos 2 organismos remotos evolucionaron sintetizando los mismos compuestos.

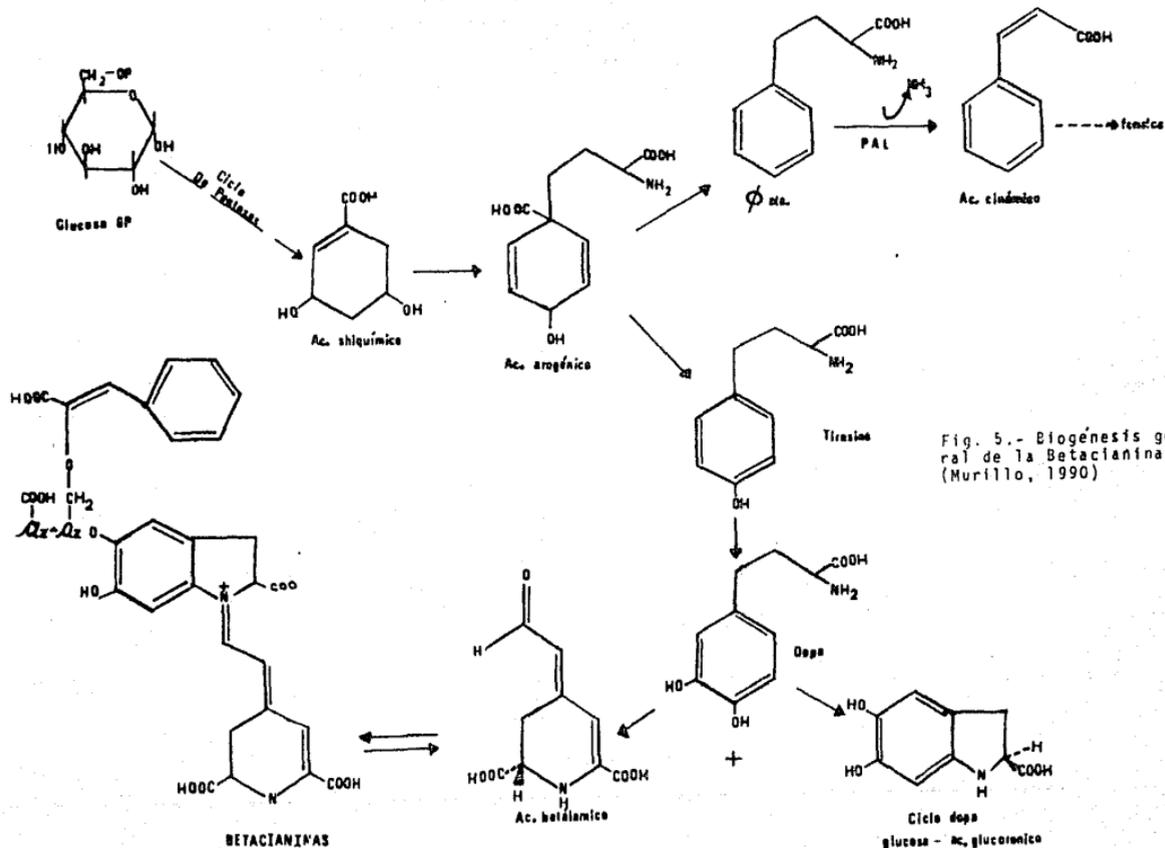


Fig. 5.- Biogénesis general de la Betacianinas (Murillo, 1990)

4.2.4 SINTESIS DE BETACIANINAS Y SU CONTROL.

La síntesis total de una betanidina, así como ciclodopa fue realizada en el período de 1960-1970. Sin embargo, no fue sino hasta 1975 cuando la síntesis de la betanidina y del éter dimetilico de la indicaxantina fue reportada y así realizada una preparación sintética de las betalainas en el laboratorio (Herрман y Dreiding, 1975; citado en Mabry, 1980). Los trabajos anteriores sirvieron como base para realizar después la conversión del ácido quelidámico, la semicarbazona del éter dimetilico del ácido betalámico, y los compuestos subsecuentes (Mabry, 1980).

En el control de la síntesis de las betacianinas, se involucran una serie de factores como luz, temperatura, condiciones hídricas de la planta, fitoreguladores, etc., elementos decisivos para elevar o disminuir la síntesis de estos productos secundarios. A continuación se describen algunas de las posibles formas de acción que tienen diversos factores sobre la síntesis de betacianinas.

A) CONDICIONES HIDRICAS.

En experimentos realizados por Elliott, 1979b y Giudeci, 1975b en los cuales se emplearon diversos tratamientos y en donde se promueve la síntesis de Betacianinas, se observó que los diferentes contenidos de agua al inicio del experimento eran de gran importancia en relación con la magnitud de la respuesta.

Varios autores han estudiado el efecto que el estrés de agua tiene sobre el desarrollo enzimático, así Bradski, et al (1972; citado en Elliott, 1979b) observó un incremento de la fenilalanina en plántulas de maíz con déficit de agua. Otros investigadores,

han detectado un incremento de la fenilalanina amonioliasa (PAL) después de incrementar la hidratación y/o aereación en plántulas de cebada o cotiledones de rábano (Elliott, 1979e). Cuando el estrés de agua es producido por un agente osmótico externo (manitol o PEG), durante el proceso de inducción, se observa una marcada inhibición de la síntesis o concentración muy baja de las Betacianinas (Elliott, 1979a).

B) TEMPERATURA.

La síntesis de Betacianinas es un fenómeno dependiente de temperatura y es inhibida cuando se mantiene una temperatura elevada durante el período de inducción (Elliott, 1979e).

Existe una correlación entre la inhibición de las Betacianinas y la inhibición de la formación de glucósidos a 39°C (Elliott, 1979c)

C) LUZ.

French et al (citado en Keith, 1977), sugirió que la luz puede ser responsable en la síntesis o inhibición de Amarantina por afectar en un mínimo dos pasos : uno entre tirosina y DOPA y otro entre DOPA y el pigmento.

Los estudios sobre la síntesis de amarantina por efecto de luz sobre los cotiledones de *A. caudatus* y *A. tricolor* en presencia de precursores exógenos, mostró que la formación de la porción dihidropiridínica de DOPA está controlada por luz, aunque no se confirma o contradice la suposición de que la reacción triosina-DOPA esté estimulada por luz (Giudeci, 1975a).

En plántulas de *A. tricolor* se ha observado una gran acumulación de Betacianinas en respuesta a un período definido de

luz roja y se han encontrado variaciones en la respuesta, cuando se han dado pretratamientos a diferentes temperaturas.

D) K⁺ EN RELACION CON FITOCROMO Y CITOQUININAS.

La síntesis de Betacianinas es un proceso dependiente del fitocromo y de citoquininas en la oscuridad, ambos sistemas son regulados por K⁺ (Elliott, 1979d). De entre varios modelos propuestos, el más favorecido es el que propone que las citoquininas tienen un efecto directo sobre el transporte iónico incrementando principalmente los niveles de K⁺ (Elliott, 1979d).

En numerosos estudios realizados en diversos vegetales, la raíz ha sido considerada como la mejor fuente endógena de citoquininas. Así, en experimentos en *Amaranthus* donde se removió la raíz, se sugirió que la baja producción de Betacianinas, fue debida a la remoción de las raíces (Elliott, 1979b).

Estudios realizados por Elliott, 1979c en *Amaranthus tricolor*, han demostrado que iones K⁺ a baja concentración, estimulan la dependencia citoquinínica en la síntesis de Betacianinas más que otros iones. La secuencia de la estimulación relativa es K⁺>Rb⁺>(Na⁺ = Li⁺).

La marcada especificidad mostrada por el ion K⁺ en la promoción de la síntesis de Betacianinas dependiente de citoquininas, apoya en general un modelo de acción para esos fitorreguladores dependientes del control de un canal iónico (Elliott, 1979d).

Experimentos efectuados para observar el efecto de la variabilidad iónica, demostraron la importancia de adicionar una

solución diluida de Ca^{2+} ya que ésta incrementa la eficiencia de K^+/Na^+ , pero tal solución resulta inhibitoria si su concentración es mayor a 1 mM igual que Mg^+ (Elliott, 1979d).

E) cAMP , GAs Y CINETINAS

Recientemente se ha reportado que en oscuridad , el cAMP induce la síntesis de amarantina en *A. paniculatus* y éste efecto de cAMP es inhibido por actinomicina. Lo anterior sugiere a que el cAMP actúa a nivel de un código genético (Giudeci, 1975a),

La síntesis de amarantina inducida por cAMP no puede reemplazar al fitocromo como lo sugirió Rast et al, 1972 (citado en Giudeci, 1975a).

El ácido giberélico también juega un papel importante en la síntesis de las Betacianinas. Para poder tener evidencia de la acción del GAs en el control de la síntesis de Amarantina fue necesario medir la incorporación de un precursor marcado ^{14}C (Elliott, D. 1976 en Elliott, 1979) pudiéndose observar que el GAs, al igual que las cinetinas, son operativas en dos sitios diferentes en el control de la síntesis de Amarantina, (Keith, 1977). En la oscuridad, el ácido giberélico inhibe la producción de la Amarantina . Se ha sugerido que el efecto del GAs en la inhibición de la síntesis Amarantina, es por el uso de la tirosina en la síntesis de proteínas que está incrementada por GAs.

Los resultados indican que el GAs, controla la producción y/o disponibilidad de tirosina y la actividad de DOPA-oxidasa (Keith, 1977).

Las cinetinas estimulan la síntesis de amarantina especialmente con un suministro exógeno de tirosina.

F) ETILENO Y BENZILADENINA.

Keith en 1977 indicó que el estrés inducido por déficit de agua (no existen reportes de estrés por exceso) al igual que el estrés por altas o bajas temperaturas, así como el estrés por lesión en la planta, producen una liberación de etileno, a éste se le ha involucrado en la síntesis de Betacianinas. El mismo autor señaló que una concentración de 300 ug/ml durante el período de inducción, es inhibitorio de la síntesis del metabolito (Keith, 1977).

En el estudio de plantas superiores se ha observado que la síntesis de betacianinas puede ser dependiente de Benziladenina cuando ésta tiene un porcentaje de conversión a derivados glucocídicos (Elliott, 1979d).

G) OXIGENO.

Mediante experimentos realizados a bajas temperaturas para determinar el efecto de O_2 sobre la síntesis de amarantina y otras betacianinas, se determinó que con un exceso de éste gas, la luz reduce la estabilidad de la Amarantina en solución. Asimismo se observó que en ausencia de O_2 la amarantina es menos estable que la betanina, mientras que en la presencia de un exceso de O_2 , la estabilidad de los pigmentos es la misma, (Huang, 1986).

H) CO_2 .

En experimentos realizados utilizando plántulas, se observó que existe una relación inversa en el gradiente celular en el sentido CO_2/K^+ , evidenciando que en un momento determinado el CO_2 puede estimular la síntesis de Betacianinas (Elliott, 1979).

I) PH

En trabajos realizados por Von Elbe en 1975 se observó que dependiendo de los diferentes valores de pH de los extractos betacianínicos, al cuantificar espectrofotométricamente se obtenían concentraciones diferentes a distinto valor de acidez o basicidad y que ésto se reflejaba en diferentes tonalidades del extracto.

4.2.5 ESTABILIDAD DE LAS BETACIANINAS.

Mediante estudios realizados, se ha determinado la existencia de una enzima que decolora a las betacianinas. Shing, C. y Wiley, C. (1981; citado en Von Elbe, 1981), proponen que la enzima tiene una mayor actividad en el tejido que conforma la porción epidérmica, que en aquéllos que constituyen la porción central del betabel. Esto sugiere que la localización de la enzima decolorasa puede asociarse con el sitio donde es mayor la acumulación del pigmento en el betabel y que en general es la porción epidérmica.

Asimismo, los estudios realizados han mostrado que la enzima decolorasa es susceptible a los factores como pH, temperatura y grado de oxigenación (Von Elbe, 1981).

Un mecanismo propuesto sobre la acción de la enzima decolorasa se muestra en el esquema de la figura 6.

4.2.6 INCIDENCIA Y FUNCION DE LAS BETACIANINAS EN LA NATURALEZA.

La historia de este pigmento comienza en 1860, pero no es sino hasta 1960 cuando comienza a ser estudiado más ampliamente (Mabry, 1964a).

Las primeras betacianinas fueron encontradas en ocho familias

(Amaranthaceae, Beceallaseae, Cactaceae, Chenopodiaceae, Mesembryonthermaceae, Nictaginaceae, Phytolaccaceae y Portulacaceae del Orden Centrospermae. Más recientemente de Rach y Reznik observaron la presencia de las betacianinas en Diderales, mientras Mabry et al (Mabry, 1963 citado en Piattelli 1964a) las encontró en Stegnosperma halinfolium (Familia *Phytolaccaceae*, *O.Centrospermae* según Lawrence, 1968). Con la excepción de la existencia de estos metabolitos en algunos hongos, se observa que la presencia de las betacianinas, es casi exclusiva del Orden Centrospermae, por tal motivo, es posible decir que dentro de los vegetales, las betacianinas tienen una distribución restringida y por eso se les ha atribuido un posible significado taxonómico-evolutivo (Piattelli, 1964b).

De tal forma , mediante el análisis experimental de las Betacianinas presentes en las Centrospermas y en relación con su posible significado taxonómico, se han sugerido las siguientes conclusiones generales:

a) En general en algunas especies, los patrones de betacianinas no son dependientes del tejido que es examinado (ej. *A. caudatus* y *Celosia plumosa*) mientras que en otras los diferentes patrones vegetativos tienen diferente composición betacianinica (ej. *Gomphrena globosa* y *Portulaca grandiflora*).

B) En un solo género, los patrones de pigmentación entre especies diferentes pueden ser muy similares (ej *Amaranthus u* *Opuntia*) o completamente diferentes (ej. *Portulaca*), por lo cual asignar a una especie dada un gen particular, el cual controle la pigmentación es un hecho difícil. Aquí es importante señalar que

en una población constituida por la misma especie existen variaciones genotípicas.

C) Yz que existen diferencias en los patrones de Betacianinas entre géneros pertenecientes a una misma familia, resulta aún más difícil tratar de particularizar en este sentido asignando a una especie dada un género determinado (Piattelli, 1964b).

En gran parte, el significado taxonómico de las betacianinas descansa únicamente en principios de presencia o ausencia del metabolito y con relación a ésto, desafortunadamente, cada una de las técnicas de extracción de las betacianinas no es del todo satisfactoria para el estudio sistemático, ya que algunas de ellas causan esterificación de la molécula y por ende errores con relación a su posible papel taxonómico (Piattelli, 1964b).

4.3.- EL AGUA EN LAS PLANTAS.

4.3.1.- RELACION HIDRICA SUELO-PLANTA-ATMOSFERA.

"La consecución de una economía hídrica equilibrada, es condición primordial, para un desarrollo regulado de los procesos vitales en las plantas terrestres, cuerpos vegetativos que se encuentran en el espacio aéreo y que pierden agua por evaporación (Walter, H. citado en Larcher, 1977).

En las plantas superiores, el movimiento de agua desde el suelo hasta sus hojas y parte apical y la posterior liberación de ésta a la atmósfera en el intercambio gaseoso vapor de agua-CO₂, se debe a un gradiente de energía del agua intra y extracelular y a los solutos que en ella se encuentran.

En otros términos, el movimiento del agua en el sistema

suelo-planta-atmósfera es debido a la energía libre de Gibbs contenida (capacidad para realizar un trabajo por volúmen de agua) denominado dentro de la fisiología vegetal como potencial de agua ψ (Fitter, 1987).

El potencial de agua pura en condiciones estandar es por definición cero. La presencia de cualquier sustancia disuelta en el agua disminuye su potencial de manera que el potencial de agua de una solución es menor que cero, es decir presenta valores negativos.

Este movimiento de agua se realiza de zonas donde el potencial hídrico es menos negativo hacia las zonas donde es más negativo, es decir a favor de un gradiente.

El potencial de agua tiene dos componentes principales que son el potencial de presión y el potencial osmótico, expresado como $\psi = \psi_{\pi} + \psi_p$. En donde ψ_{π} es el potencial osmótico. (Bidwell, 1979).

El potencial con el que el agua pura se difunde hacia una solución es el potencial osmótico ψ_{π} . Así, como el agua difunde de alto potencial (cero en agua pura), a bajo potencial, el potencial osmótico de una solución es siempre negativo (Fitter, 1987).

El agua de las células poseen un potencial de presión positivo y mayor que el potencial de presión del exterior. El símbolo para el potencial de presión es ψ_p . El potencial de presión atmosférica es cero por definición. Los valores de ψ_p pueden fluctuar desde negativos hasta altamente positivos (Bidwell, 1979).

4.3.2.- RELACIONES HIDRICAS INTRA Y EXTRACELULARES.

Las células involucradas en la relación planta-agua, poseen una gran cantidad de ésta última en su vacuola central. La asociación citoplasma-plasmalema-tonoplasto, constituyen una membrana semipermeable. La concentración de solutos en el apoplasto es baja y por eso el potencial en el apoplasto esta determinado por la fuerza mátrica

$$\psi \text{ apo.} = \psi \text{ m}$$

donde m normalmente será (-0.1 MPa) y los elementos coloidales deben de ser un componente importante como potencial mátrico en el citoplasma (Fitter, H & Hay 1987).

Las fuerzas mátricas son consideradas poco importantes en el jugo vacuolar, por eso, el potencial hídrico es determinado por el potencial de solutos, así:

$$\psi \text{ vac} = \psi \text{ sol.}$$

el que puede variar de menos 0.5 a menos 3 MPa de acuerdo a las concentraciones de solutos en el jugo vacuolar.

Ya que el $\psi \text{ va.}$ es más bajo que el $\psi \text{ ap.}$, el agua tiende a fluir a través del citoplasma efectuando al mismo tiempo un incremento en el potencial de agua y volumen vacuolar.

En equilibrio la presión de turgencia vacuolar, llega hasta un valor máximo sin tendencia a que fluya el agua del apoplasto a la vacuola, así:

$$\psi \text{ apo.} = \psi \text{ vac}$$

El continuo y progresivo desarrollo de presión de turgencia (pot. de presión), causado por el flujo en la célula vegetal, puede ser ilustrado por el moderno diagrama de Höfler. Figura 7.

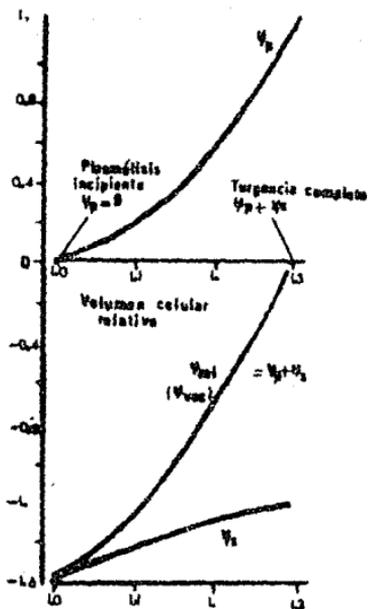


Fig. 7.- Diagrama de "Hofler" para una célula foliar idealizada mostrando la relación entre el potencial de agua vacuolar (ψ_{vac}) y otros elementos como el potencial de solutos (ψ_s), el potencial de presión (ψ_p) a diferentes volúmenes celulares (citado en Fitter, 1987).

En su mayoría los procesos bioquímicos y fisiológicos se realizan en el citoplasma o en los organelos ahí localizados, termodinámicamente se asume que el potencial de agua en el citoplasma (ψ cito.) puede ser igual al que se encuentra en la vacuola (ψ vac), en tal caso, el ψ cel queda expresado como:

$$\psi_{\text{cel}} = \psi_{\text{cito}} = \psi_{\text{c.}}$$

pero, aunque los potenciales citoplásmicos y vacuolares sean iguales, los tamaños relativos de los componentes del potencial de agua no pueden ser los mismos, porque la fuerte concentración de partículas coloidales deben ser componentes importantes como potencial mátrico en el citoplasma (Fitter, & Hay, 1987).

4.3.3.- EL ESTRÉS DE AGUA EN LOS VEGETALES.

El término estrés, ha sido empleado generalmente para indicar un estado de tensión, el cual puede conducir a un desequilibrio.

A través del tiempo, se ha observado que tales desequilibrios no solo tienen lugar en los cuerpos físicos, sino también en los seres vivos.

No obstante existen diferencias considerables entre el estrés mecánico y aquél que ocurre en los seres vivos. Así al considerar que los seres vivos son afectados por el medio que les rodea, ha surgido un interés en los estudiosos por saber cuáles son las causas y consecuencias de un estrés en las plantas y los animales para lo cual en primer lugar ha sido necesario tratar de definir de una manera precisa que es el estrés biológico.

De acuerdo con lo anterior, Jacobo Levitt en 1972, propuso una definición del estrés biológico derivado de las ciencias físicas. El cual denota que "existen diferencias considerables

entre el estrés mecánico y aquél que afecta a los seres vivos ya que éstos (especialmente los vegetales) son capaces de erigir barreras entre sí y el medio".

Levitt, sugirió que "el estrés biológico es un cambio en las condiciones las cuales pueden reducir o cambiar adversamente el crecimiento de un ser vivo o las funciones normales de su desarrollo".

No obstante, el término estrés biológicamente hablando ha sido difícil de definir considerando hasta que punto es válido establecer que un ser vivo se encuentra bajo estrés si aún en condiciones extremas como por ejemplo, suelos altamente salinos o que tienen un escaso suministro de agua, son capaces de realizar sus funciones vegetativas y reproductivas.

El hecho anterior ha llamado la atención ampliamente y fue entre los ecólogos en donde han surgido varias hipótesis y leyes que tratan de explicar tales eventos. Dentro de sus trabajos han realizado una serie de gráficas las cuales reflejan de una manera objetiva la existencia de puntos óptimos y mínimos a los cuales se pueden encontrar un individuo o especies determinadas. Este tipo de gráficas llamadas "Curvas de tolerancia de Shelford", están representadas por una campana unimodal con su pico que indica condiciones óptimas y sus colas que reflejan límites de tolerancia (Pianka, 1978).

No obstante se ha observado que cuando un individuo es sometido a estrés, las fuerzas externas que generan tal condición, originan fuerzas internas en el organismo lo cual a su vez origina cambios en éste. En relación a lo anterior se ha sugerido que en

los seres vivos:

a) Existen propiedades internas innatas las cuales oponen resistencia a un estrés específico.

b) Son adaptables, es decir, son capaces de realizar cambios gradualmente en algunas de sus rutas metabólicas para disminuir o prevenir un daño ocasionado por estrés.

c) Existen una posibilidad de autorreparación del daño así como de reducción o cambio de funciones fisiológicas.

Lo anterior pone en evidencia la existencia de factores limitantes del medio ambiente y rangos de tolerancia y elasticidad fisiológica de los organismos. En relación a esto, se dice que cualquier factor que tiende a disminuir la tasa metabólica o potencial de crecimiento es un factor determinante, donde el tope por decirlo así, tiene un valor de sobrevivencia (Levitt, 1972). La idea anterior está estrictamente relacionada con la "Ley del mínimo de Leabig" la cual entre otras cosas expresa que "el porcentaje de crecimiento de un organismo vivo o conjunto de ellos depende del nutrimento suministrado o reciclizado en cantidad mínima en términos de su necesidad. Si se amplía esta idea para incluir otros factores que no sean nutrimentos, para abarcar el efecto limitante del máximo (es decir también demasiado puede limitar) y reconocer que los factores accionan mutuamente (esto es, el suministro deficiente de una cosa afecta los requerimientos para otra no en sus propias limitaciones" (Pianka, 1978).

En relación con la elasticidad fisiológica, que está involucra, Levitt, indica que existe una posibilidad de

reversibilidad en las funciones cuando las condiciones regresan a su mejor estado.

En general, los fisiólogos vegetales, han enfatizado en sus estudios tales "fuerzas de elasticidad" como aquéllas causadas por el estrés de congelamiento, temperatura, elevadas concentraciones de iones en el medio o relacionado con el suministro de agua (Salisbury, 1985).

En particular el estrés de agua puede presentarse debido a un déficit o exceso del líquido. El estrés debido al déficit es mucho más común que el ocasionado por exceso, de tal forma generalmente en la literatura es factible encontrar referido al estrés hídrico inducido por déficit como estrés por desecación (Harper, 1982).

Es importante señalar que la restricción en el suministro temporal o permanente, constituye un factor selectivo (Presión de Selección Natural) en el curso de la evolución de las especies vegetales y ha llevado al desarrollo de adaptaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas tales como el presentar hojas crasas o esclerófilas, hábitos caducifolios, y metabolismo C4 o CAM. A las anteriores adaptaciones se les ha vinculado con una mayor probabilidad de sobrevivencia de las plantas superiores en hábitats donde el agua escasea (Medina, 1977). El estrés hídrico o restricción de agua, puede darse por circunstancias entre las cuales es posible mencionar el menor suministro del líquido o concentraciones elevadas de solutos que impiden su toma.

De tal forma, tanto los organismos que carecen del suministro de agua como aquéllos que se encuentran en sustratos con

concentraciones significativas de iones salinos, están sometidos al estrés de agua, el que influye de manera decisiva en su desarrollo y metabolismo.

Un aspecto bioquímico encontrado en muchos organismos sujetos al estrés de agua, es la acumulación de ciertos compuestos orgánicos como : azúcar (sacarosa, ácidos orgánicos (malato, oxalato, etc.) aminoácidos y derivados proteínicos (prolina) y algunos otros que disminuyen el potencial osmótico, compuestos que son llamados osmorreguladores (Morgan, 1984). Muchos estudios indican que las actividades de ciertas enzimas, especialmente la nitrato reductasa, la fenilalaninamonoliaza (PAL), y otras disminuyen conforme su actividad aumenta debido a que pueden romper almidones y otros materiales para hacer el potencial osmótico menos negativo, evitando a la célula la pérdida de agua, que si encuentra disponible, puede tomar.

Por otra parte, se ha indicado que en condiciones de estrés hídrico hay una síntesis de ABA el cual inhibe el crecimiento de tallo e incrementa el crecimiento de raíces lo cual tiende a fomentar la conservación de agua y crear promotores en el suministro de la misma. Estas adaptaciones es posible encontrarlas en muchas mesófitas.

4.3.4.- EL POTENCIAL DE AGUA, UN INDICE DEL ESTRES HIDRICO.

El potencial de agua es un índice conveniente del estrés, de acuerdo a los valores del parámetro mencionado se han establecido los siguientes niveles:

DEFICIT	Estrés Suave	ψ cel. ligeramente bajo, típicamente debajo de -0.5 MPa o más.
DE AGUA	Estrés Moderado	ψ cel. bajos con valores típicos entre -0.5 a -1.2 MPa.
	Estrés Severo	ψ cel. debajo de -1.5 MPa.

De acuerdo al criterio anterior (Fitter, 1987), el estrés de agua determina eventos muy importantes originando al mismo tiempo una serie de alteraciones como: daños de procesos que controlan el metabolismo y que son esenciales para la vida. El crecimiento celular se ve afectado, lo que frecuentemente se ve reflejado en el retardo del crecimiento de tallos y raíces. También tiene efecto sobre la síntesis de proteínas y de la pared celular.

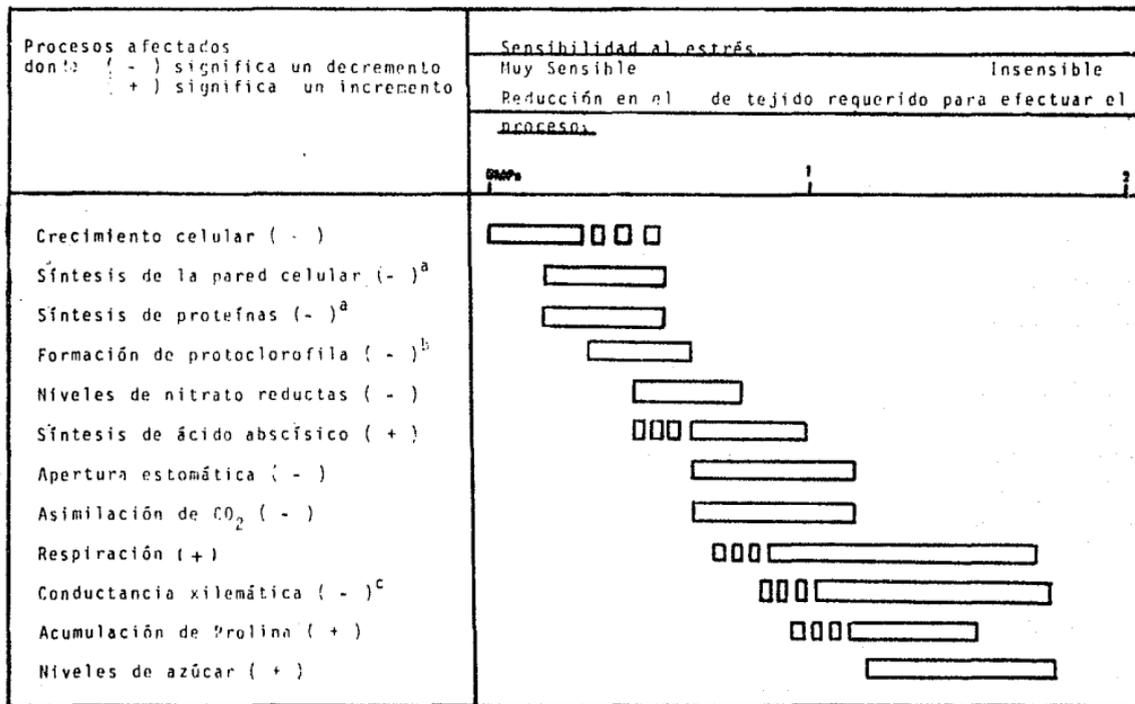
En torno a niveles de estrés de agua, el ABA muestra un marcado incremento en el tejido foliar y una menor dimensión en otros tejidos como las raíces (revisado por Radford y Siao, 1982; Salisbury, 1985 y Walton, 1980; citado en Salisbury, 1985)

La serie de daños ocasionados por el estrés de agua se da en forma gradual dependiendo de los niveles de estrés a los que la planta se encuentra sometida Fig. 9 (Hsiao et al 1976b citado en Fitter, 1987).

4.3.5.- EL ESTRES DE AGUA Y LA TOXICIDAD IONICA.

En el medio ambiente donde crecen las plantas, es posible identificar factores químicos que pueden serles tóxicos.

En particular, las raíces de las plantas las cuales generalmente se encuentran en el suelo, absorben además de



^a Crecimiento rápido de tejidos, ^b hojas estioladas, ^c debe depender de la dimensión xilemática.

Figura 8.- Influencia del estrés de agua sobre la fisiología de plantas mesófitas. Las barras horizontales continuas indican el rango del nivel de estrés entre tal proceso y los primeros efectos, las barras discontinuas indican el efecto del estrés aún no establecido (Hsiao, et al., 1976 citado en Fitter, 1987).

nutrimentos iones esenciales, compuestos orgánicos y otros elementos. Los anteriores se pueden encontrar en el sustrato en concentraciones las cuales no tienen efectos tóxicos significativos y por lo tanto son soportados, pero en otros casos las concentraciones si afectan e incluso pueden ser letales para los organismos ahí establecidos.

La toxicidad iónica puede ser clasificada con base en dos importantes distinciones (Fitter, 1987).

i) La concentración a la que se encuentran .

ii) Si los elementos son o no esenciales en el crecimiento de la planta.

Los daños ocasionados por toxicidad iónica producen un desequilibrio en la toma y uso de recursos debido al efecto directo de los iones sobre el metabolismo celular, o simplemente por una competencia entre la interacción de los mismos, por ejemplo Na^+ y K^+ .

Algunas plantas pueden crecer en sustratos que contienen una concentración de iones que pueden ser tóxicos para otras especies.

Algunos de los mecanismos por los que puede presentar resistencia a tal toxicidad son:

1.- ESCAPE FENOLÓGICO..... Donde el estrés es estacional, la planta puede ajustar su ciclo de vida para crecer en épocas más favorables.

2.- EXCLUSION.-..... Las plantas pueden ser capaces de reconocer iones tóxicos y prevenir esos conductos y de tal forma no experimentar esa toxicidad.

3.-COMPARTAMENTALIZACION.- La planta absorbe los iones; pero actúa sobre ellos para minimizar el efecto. Invariablemente, ellos pueden involucrar la quelación, dilución, localización y excreción.

4.-TOLERANCIA.-La planta puede estar involucrada en un sistema metabólico que posiblemente pueda funcionar a potenciales de concentración tóxica, por medio de distintas moléculas enzimáticas.

En aquellas especies que muestran una disposición a resistir la toxicidad iónica ocurre una interacción de mecanismos que implican importantes coacciones fisiológicas y ecológicas (Fitter, 1987).

4.3.6.- MEDICION DEL ESTRES HIDRICO DE LA PLANTA.

Aunque el potencial de agua es un índice de estrés al que pueden encontrarse sometidas las plantas, dada la dificultad que implica su medición, algunos autores prefieren indicar la severidad del estrés de agua en un tejido mediante la fracción de pérdida de agua celular, más bien que por la depresión del potencial hídrico. (Bannister, 1976 citado en Fitter, 1987).

Así del Río, 1988, para determinar el estatus hídrico de una planta, empleó los términos: Contenido Relativo de Agua (CRA) y Déficit de Saturación de Agua (DSA) en donde: P_i es el peso inicial, P_s es el peso seco y P_t es el peso de turgencia.

$$C R A = \frac{P_i - P_s}{P_t - P_s} 100$$

$$D S A = \frac{P_t - P_i}{P_t - P_s} 100$$

El déficit de saturación de agua (DSA) es la cantidad absoluta que requiere una planta para llegar a su saturación máxima. CRA y DSA son parámetros complementarios, pues al sumar ambos valores se obtiene el 100 %.

En plantas bien regadas, el CRA de sus hojas no varía considerablemente, mientras que en plantas con menor riego, el CRA de las hojas jóvenes disminuye en menor proporción que el de las hojas viejas, esto se debe probablemente a la existencia de un sistema protector del ápice.

Existen varias formas para cuantificar el CRA ya sea en hojas completas o en explantes de las mismas (Barrs, 1968; Catsky, 1974 y Richter, 1978a; citados en del Río, 1988). Debido a que el método para cuantificar el CRA utilizando la lámina foliar y peciolo, no considera que exista un crecimiento celular durante el tiempo en que el tejido se encuentra sumergido en el agua, algunos autores (Catsky, 1974; Turner, 1981 citados en del Río, 1988), consideran que es mejor emplear discos o segmentos de hojas permitiendo reducir el tiempo de toma de agua y el posible incremento en el peso de turgencia (Pt) provocado por el crecimiento celular (del Río, 1988).

V MATERIALES Y METODOS.

De acuerdo a los objetivos planteados , el trabajo fue dividido en 2 etapas. La primera se realizó en el Centro de Ecología y en el Departamento de Bioquímica Vegetal de la Facultad de Química, ambas en la UNAM. México, D.F., de mayo de 1988 a noviembre de 1988. La segunda etapa se realizó exclusivamente en el segundo lugar citado de diciembre de 1988 a mayo de 1989.

5.1.- MATERIAL BIOLÓGICO.

En la primera etapa se utilizaron plantas de *Amaranthus hypochondriacus* tipo Arizona (Centro de Ecología UNAM., México, D.F., donado por el Dr Alejandro E. Castellanos V.). En la segunda etapa se emplearon plantas jóvenes de *Amaranthus hypochondriacus* tipo mercado (INIFAP, Chapingo Edo. México, donado por el Ing. Eduardo Espitia).

5.2.- PRIMERA ETAPA..

5.2.1.- ELECCION Y CRECIMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO.

Este tipo de Amarantho fue elegido por el interés de estudiar la variabilidad del patrón de pigmentación existente en sus plantas. Tal variabilidad fue posible evidenciarla mediante la coloración que presentaron las plantas. Asimismo, eso fue relacionado con 2 fenotipos, a los cuales fue posible diferenciar desde las primeras semanas del desarrollo de las plantas, tiempo durante el cual dentro de un solo lote se observó un grupo de plantas con una pigmentación rojiza, en sus tallos y hojas, en tanto que el otro grupo era casi totalmente verde en ambas estructuras.

Las plantas de *A. hypochondriacus* utilizadas en esta primera parte del trabajo, crecieron en el Invernadero del Centro de Ecología en bolsas de polietileno negro de una capacidad aproximada de 200 gr. Después de llenar la bolsa con una mezcla de " 2/5 partes de tierra de hoja, 2/5 partes de tierra negra y 1/5 parte de piedras de tezontle" que se utilizó como suelo, se regó con agua corriente. En el sustrato ya mojado se hizo un pequeño agujero de un diámetro aproximado de 1 cm con una profundidad de 1.5 a 2 cm en el que fueron sembradas de 4 a 6 semillas para finalmente cubrir a éstas con el suelo

La germinación de las semillas se observó de 3 a 4 días posteriores a su siembra. Después de un período de 15 días, se eligió de entre todas las plántulas de cada bolsa a la más vigorosa y se eliminaron a las demás, ésto con el fin de permitir a las seleccionadas el mejor desarrollo posible. Las plantas elegidas se regaron diariamente a capacidad de campo y se dejaron crecer durante los 64 días subsecuentes a su desarrollo.

A partir del día 64, las plantas fueron separadas en 6 lotes con 30 individuos cada uno. Tres de éstos, conformados únicamente por organismos pertenecientes al fenotipo rojo, en tanto que los otros 3 se integraron exclusivamente con plantas del fenotipo verde. Las 30 plantas de cada lote se dividieron al azar en 6 grupos con 5 individuos cada uno. A los lotes pertenecientes a cada fenotipo se les asignó la siguiente nomenclatura:

PARA EL FENOTIPO ROJO

Lote A = Control

Lote B = estrés de agua.

Lote C = Estrés de agua más trasplante.

PARA EL FENOTIPO VERDE

LOTE A' = Control

Lote B' = Estrés de agua

Lote C' = Estrés de agua más trasplante.

Ya separados los lotes y a partir, de esa misma fecha, a cada uno de los lotes pertenecientes a ambos fenotipos se les aplicó el tratamiento que a continuación se describe:

LOTE

TRATAMIENTO

A y A' = Control.....A las plantas que conformaron este grupo, se les siguió regando a capacidad de campo como en los días anteriores y hasta terminar el experimento.

B y B' = Estrés.....En las plantas de éste lote se indujo el estrés mediante la disminución gradual del suministro del líquido, el cual se inició con 100 ml, hasta llegar tan solo a un volumen de 20 ml. Esta cantidad fue mantenida hasta el término del experimento.

C y C' = Estrés Las plantas que conformaron estos lotes de agua además de ser sometidas al estrés de agua mas, se utilizaron después de un período de trasplante tiempo para ser trasplantadas.

Cada tercer día después de que se conformaron los lotes de ambos fenotipos, se eligió al azar una planta y a ésta se le cortó una hoja, procurando que tuviera el mismo tamaño que la que se

había elegido en el mismo grupo en la fecha anterior. Cada hoja elegida se empleó como material del que posteriormente se extrajeron tanto Betacianinas como clorofilas.

Cuando las plantas llegaron a los 94 días de edad se realizó lo siguiente:

Del lote C y C', conformado cada uno por 30 individuos, se tomaron al azar 10 de cada fenotipo y a los restantes se les desecharon. A los que se eligieron, se les trasplantó en macetas de 3000 gr de capacidad. El trasplante se realizó de la manera que a continuación se indica:

En primer lugar a las macetas que contenían inicialmente la planta, se les presionó en su periferia con las manos, ésto con el fin de que de tal manera se aflojara la tierra y no se lesionaran las raíces de los Amarantos. Enseguida se sacó a cada planta de su maceta y a cada una se le transfirió a otro recipiente en donde previamente se había depositado una cantidad de suelo equivalente a 1875 gr aproximadamente. En el centro del suelo, se hizo un hueco donde rápidamente se colocó a la planta, para enseguida cubrirla con suelo hasta una capacidad de 2 500 gr y a continuación se les regó con 250 ml de agua.

Al igual que en la etapa anterior al trasplante en que los organismos que conformaron los lotes C y C' fueron sometidas al estrés de agua mediante la disminución gradual del suministro del líquido, después de efectuar el trasplante, las 10 plantas de cada fenotipo fueron sometidas al estrés mediante el mismo mecanismo, pero en esta ocasión la cantidad inicial de agua fue de 250 ml para llegar en forma gradual hasta los 75 ml. Mientras se realizó

este tratamiento en las plantas trasplantadas, en los lotes A y A' B y B', se continuó con los tratamientos señalados inicialmente.

A los 105 días de edad de las plantas, con los integrantes de los lotes C y C,' se realizó un segundo trasplante que tuvo las siguientes características:

Cada grupo de 10 plantas de cada fenotipo previamente trasplantadas se subdividió en 2 grupos.

Cinco plantas del fenotipo rojo y 5 del fenotipo verde se transfirieron a otras macetas como en el primer trasplante, pero en esta ocasión utilizando suelo del terreno designado por el Programa Universitario de Alimentos para efectuar estudios relacionados con el Amarantho. (El terreno designado para tales fines se encuentra en las instalaciones del "Rancho San Francisco", perteneciente a la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, el cual se localiza en las inmediaciones del Municipio de Chalco Edo . Mex.). A partir de esta fecha y hasta el final del experimento, a estos organismos se les regó a capacidad de campo.

Las otras cinco plantas de cada fenotipo fueron llevadas hasta el lugar antes señalado. Ahí, se limpió el terreno, se aflojó la tierra con pico y pala , quitando al mismo tiempo todas las piedras que se encontraron, se hicieron agujeros en el suelo con una distancia de 1m entre uno y otro. Se regó el suelo a capacidad de campo. Las plantas se sacaron de las macetas que las contenían y se colocaron rápidamente dentro del hueco formado en el suelo. Ya dentro de éste se les cubrió y se les formó una barrera con el mismo suelo para a continuación , volver a regar abundantemente.

5.2.2.- PREPARACION DE LAS MUESTRAS PARA SU ANALISIS.

Después de ser cortadas las hojas que serían sometidas a análisis, se les introdujo en sobres de papel aluminio que se cerraron y etiquetaron para ser colocados sobre hielo. Ya en el laboratorio, las hojas colectadas fueron pesadas individualmente en una balanza analítica Sartorius digital y enseguida, con una navaja cada una fue cortada en fragmentos pequeños de aproximadamente 1 mm a 1.5 mm de longitud. A cada muestra se le depositó en un tubo de ensayo etiquetado. Las muestras se congelaron durante un período de 24 horas a - 70° para después ser analizadas.

5.2.3.- ANALISIS DE LAS MUESTRAS Y CUANTIFICACION DE BETACIANINAS EN ESTAS.

Por la necesidad inminente de obtener las betacianinas en su estado más puro, antes de la extracción de éstas, a cada muestra se le extrajo el contenido de clorofilas. (Wintermans & Mots, 1965). De cada hoja, con etanol caliente se separaron las clorofilas. La solución de etanol y clorofilas fue depositado en un recipiente oscuro y cerrado con el fin de evitar su oxidación por efecto de la luz. El volumen final de etanol y clorofilas perteneciente a cada muestra, fue aforado a 40 ml y fue filtrado.

Con las muestras colectadas fueron cuantificadas las clorofilas mediante su lectura a 649 nm y 665 nm de luz visible en un espectrofotómetro PYE UNICAM SP-550 UV/VIS.

Ya libres completamente de las clorofilas, la muestra se secó al vacío. Para la extracción de betacianinas, a cada muestra se

le agregó un pequeño volumen de una solución de Fosfatos de Sodio 10 mM con un pH 7. que fue medido en un potenciómetro Conductronic.

Los tubos de ensaye con cada muestra se colocaron sobre un agitador eléctrico Thermoline-Symbron, así las muestras fueron agitadas a velocidad máxima, después éstas en sendos tubos de ensaye fueron colocadas sobre hielo y se dejaron ahí por un espacio de 5 a 10 minutos para enseguida con una pipeta Pasteur recolectar la solución de Fosfatos de Sodio en que las betacianinas fueron solubilizándose poco a poco. Finalmente, las muestras recolectadas fueron depositadas una a una en otros tubos de ensaye.

El volumen final de cada muestra, fue aforado a 10 ml con la solución amortiguadora y filtrada a través de una capa de papel Whatman # 1. Finalmente se determinaron las Betacianinas por espectrofotometría cuantificando a 537 nm de luz visible.

5.3.- SEGUNDA ETAPA.

5.3.1.- ELECCION Y CRECIMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO.

El material biológico utilizado en esta segunda etapa del trabajo lo constituyeron plantas de *Amaranthus hypochondriacus* tipo mercado, se eligió este tipo porque la población es más homogénea en su patrón de pigmentación.

Las plantas de *A. hypochondriacus* tipo mercado crecieron en el invernadero del Departamento de Bioquímica Vegetal de la DEPg de la Facultad de Química, UNAM, México, D.F.

El suelo utilizado fue arena lavada a neutralidad con ácido clorhídrico, la cual se secó a temperatura ambiente en un cuarto

aereado. Este tipo de suelo se utilizó con el fin de que en él no existiera ninguna fuente de nutrimentos disponibles para las plantas, sino que éstos fueron proporcionados de una forma controlada a través de una solución nutritiva para lo cual fue empleada la solución de Hogland (Salisbury, 1985).

Así, en bolsas de plástico negro, fue depositada una cantidad de 250 gr de arena. Las bolsas ya llenas con el sustrato fueron colocadas dentro de charolas con rejillas que funcionaron como soportes para las bolsas.

En la arena contenida dentro de cada bolsa, se hizo un agujero de una profundidad de 1 a 1.5 cm con el mismo diámetro y ahí fueron depositadas de 3 a 4 semillas de *A. hypochondriacus* tipo mercado cuya germinación ocurrió de 3 a 4 días posteriores a su siembra.

Durante los 14 días subsecuentes a la siembra de las semillas, el riego de las mismas se realizó vertiendo en todas las charolas una cantidad abundante pero igual de agua corriente. En el día 14 de vida de las plántulas, de aquéllas que emergieron en cada bolsa, se eligió la más vigorosa y se desecharon las otras, de esta forma se permitió el mejor desarrollo de la que quedó. También a partir de ésta fecha y hasta los 28 días de edad de las plantas la solución empleada en el riego de las mismas fue la de Hogland que, como en días anteriores fue depositada en cantidades iguales (1.5 lt) en cada charola.

A partir del día 29 después de la siembra de las plantas, éstas fueron divididas al azar en 3 grupos, cada uno integrado por 60 individuos. A cada lote formado se le aplicó cada uno de los

tratamiento descritos a continuación:

LOTE	TRATAMIENTO
1 CONTROL.-	Con un suministro durante todo el experimento de solución de Hogland.
2 ESTRES.- NaCl 300 mM	Inducción del estrés de agua mediante una solución de Cloruro de Sodio 300 mM, liberación del estrés y reinducción del estrés con la misma solución.
3 ESTRES.- PEG (6000) 4%	Inducción del estrés de agua mediante una solución de Polietilenglicol (PEG 6 000) 4%, liberación temporal del estrés y reinducción del mismo.

A partir de los 29 días, cada tercer día se suministró a las charolas que contenían las bolsas en que crecían ellas, una cantidad igual (1750 ml) de cada una de las diferentes soluciones según el tratamiento correspondiente (1 = Hogland , 2= NaCl 300 mM y 3 = PEG 6000 4%). Las soluciones fueron removidas en el mismo lapso de tiempo y después de lavar la charola para evitar la concentración de iones , se depositó una nueva cantidad de solución.

5.3.2.- TOMA DE MUESTRAS Y PREPARACION DE LAS MISMAS PARA SU ANALISIS.

De los 60 individuos sometidos a cada tratamiento, cada tercer día, se tomaron 4 plantas, que fueron procesadas como se describe a continuación:

A cada planta se le separó en tallo y lámina

foliar (eliminando la raíz , los peciolo y las yemas) y ambas partes fueron colocadas sobre hielo y cubierto con papel aluminio para evitar su contacto directo con el material vegetal.

Cada uno de los tallos y el conjunto de láminas foliares pertenecientes a cada planta fueron pesados en una balanza analítica Sartorius digital. Enseguida todas las láminas foliares de una misma planta fueron cortadas con una navaja en fragmentos pequeños y a éstos se les depositó dentro de un tubo de ensaye. Las porciones epidérmicas fueron desprendidos de los tallos mediante una navaja y a éstos y a la porción restante del tallo se les fragmentó por separado en porciones pequeñas de aproximadamente 1 a 1.5 mm de longitud. Las porciones fueron almacenadas por separado en tubos de ensaye. Lo anterior se realizó al haber observado que, al igual que en el Betabel (Elliott, 1983) la porción epidérmica del tallo, es la zona que contiene una mayor cantidad del metabolito, así como para evitar una contaminación con las clorofilas. Finalmente, la extracción betacianinica tanto de la epidérmis como de la porción central se reunieron para cuantificar como una sola determinación por tallo.

5.3.3.- ANALISIS Y CUANTIFICACION DE BETACIANINAS.

A las hojas y porciones epidérmicas y centrales del tallo se les congeló por 24 horas a -70° , para posteriormente analizar su contenido de betacianinas conforme a los métodos descritos en la primera etapa de este trabajo.

5.3.4.- MEDICION DEL CONTENIDO RELATIVO DE AGUA EN EL MATERIAL VEGETAL.

En esta segunda etapa del estudio, en todos los tratamientos y en cada una de las muestras elegidas al azar, previo a la

cuantificación de las Betacianinas, se le determinó su contenido relativo de agua como un índice del estrés hídrico en que se suponía debían encontrarse las plantas (del Río, 1988).

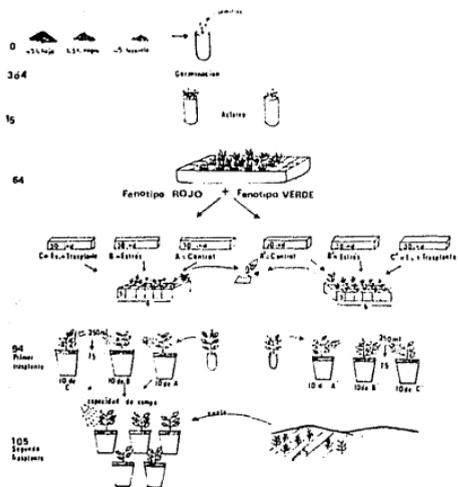
El contenido relativo de agua fue determinado en discos provenientes de las hojas de cada una de las muestras. Los discos cortados con un horador de 8 mm de diámetro, fueron pesados (dos discos por cada planta) para determinar su peso fresco o inicial (P_i) en una balanza analítica Sartorius digital y posterior a ello fueron colocados dentro de una cámara de saturación constituida por un hule espuma al que se le hicieron perforaciones del mismo diámetro que el de los discos vegetales, el hule espuma horado fue colocado dentro de una caja petri.

Ya colocados los discos dentro de la cámara, fue saturada con agua destilada y desionizada, se cerró y cubrió con papel aluminio para evitar el paso de la luz; así se les dejó por un período de 4 horas, tiempo durante el cual se supuso que las muestras alcanzarían su saturación máxima. Después de transcurridas las 4 horas, los discos fueron nuevamente pesados para determinar cual era el peso de turgencia de éstos (P_t).

Con unas pinzas se tomaron los discos pertenecientes a la misma muestra y se colocaron en pequeñas charolillas de papel aluminio que fueron introducidas en una estufa de vacío OVEN-GCA a 75° durante 24 horas. Después de ese período se sacaron las muestras y se colocaron rápidamente dentro de una bolsa de polietileno, dejándose enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente ser pesadas y así obtener el peso seco (P_s) de cada muestra. Con cada uno de los pesos obtenidos mediante esta técnica, se determinó el Contenido relativo de agua.

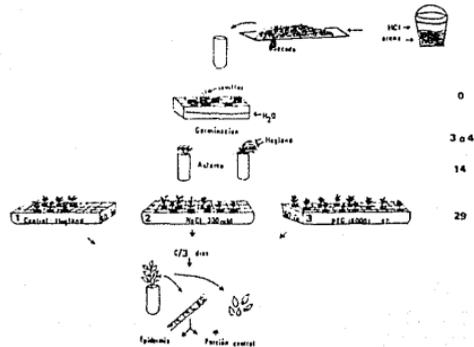
METODOLOGIA

D.A. 1ª ETAPA *A. hypochondriacus* L. Tipo Arizona



2da ETAPA *A. hypochondriacus* L. Tipo Mercado

D.A.



DETERMINACION CRA



DETERMINACION DE BITACANINAS

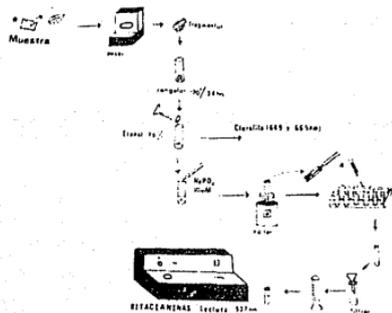


FIGURA 5

VI RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados del presente trabajo son mostrados acorde a la metodología descrita, es decir, en la primera etapa, los datos de los experimentos realizados con plantas adultas de *A. hypochondriacus* L. tipo Arizona. En la segunda etapa se presentan los resultados correspondientes a los experimentos realizados con plantas jóvenes de *A. hypochondriacus* tipo mercado.

6.1.- RESULTADOS CORRESPONDIENTES A LA PRIMERA ETAPA DEL TRABAJO.

6.1.1.- EFECTO DEL ESTRES HIDRICO EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO ROJO CON DESARROLLO COMPLETO EN INVERNADERO.

Al inducir en las plantas el estrés de agua mediante la disminución gradual del líquido, se pensó que en ellas la concentración de betacianinas se incrementaría en forma proporcional conforme se fuera restringiendo el suministro de agua, sin embargo, tal fenómeno no ocurrió así, y por el contrario, como es posible observar en la figura 10, en sólo 12 días (a partir del día 64 en que se iniciaron los tratamientos y hasta el día 76) se observó un rápido decremento no sólo en el lote control, sino también en aquéllos cuyas plantas se encontraban sometidos al estrés mediante la disminución gradual del agua.

No obstante, a partir del día 76 nuevamente se observó un incremento en la concentración de Betacianinas, aunque ésta no igualó la concentración máxima (36.7 μM Bc/gr tej fresco).

alcanzada en las plantas, en los días subsecuentes al inicio del tratamiento.

A los 82 días de vida de las plantas se advirtió que en aquéllas del lote B, alcanzaron una concentración máxima de 23.9 $\mu\text{M Bc/gr tej. fresco}$ y los del lote C (estrés más trasplante) una concentración máxima de 22.2 $\mu\text{M Bc/gr tej fresco}$ mientras que las del lote control en esta misma fecha alcanzó una concentración máxima de 13.5 $\mu\text{M Bc/gr tej fresco}$, siendo superado en lote B y C por un 77.03% y 64.4% respectivamente. Sin embargo tal incremento en la concentración del metabolito descendió rápidamente en los lotes B y C y en un lapso de 9 días presentó decrementos con valores incluso por debajo de aquéllos alcanzados en el lote control. Así, la concentración máxima del lote B (10.3 $\mu\text{M Bc/gr tej fresco}$) y la concentración máxima del lote C (10.1 $\mu\text{M Bc/gr tej fresco}$) representaron un 43.09 % y 27.92 % con respecto a las concentraciones alcanzadas en los mismos lotes en el día 82.

En la gráfica presentada en la figura 11, se muestra a diferente escalas los cambios ya indicados en la concentración de Betacianinas durante los primeros días del tratamiento (fig. 10) y además, son mostradas las evidencias del efecto que el trasplante tuvo sobre la concentración de Betacianinas y la relación de tal efecto con los eventos anteriores. De tal forma, es posible observar como a partir del día 91 de vida de las plantas en que se realizó el primer trasplante en invernadero, en aquéllas

pertencientes al lote C, la concentración del metabolito se incrementó significativamente hasta en un 268.72% y en un 223.96 % respecto a la concentración máxima alcanzada en los lotes A y B durante el período de tiempo que comprendió del día 64 al 91.

Es importante señalar que durante el primer trasplante, a partir de que se observó la concentración máxima a los 97 días acumulados, ésta comenzó a descender en forma semejante a los eventos presentados durante los primeros 25 días del tratamiento.

En la misma gráfica, es posible observar que a partir del día 103 en que, con una porción de plantas del lote C se realizó el 2º trasplante en invernadero, se incrementó la concentración de Betacianinas, aunque éste superó a la concentración alcanzada durante el primer trasplante del mismo lote solamente por 16.6 %.

6.1.2.- EFECTO DEL ESTRES EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS DURANTE EL TRASPLANTE DE PLANTAS DEL FENOTIPO ROJO DE *A. hypochondriacus* L. TIPO ARIZONA CON DESARROLLO INVERNADERO-CAMPO.

Los resultados presentados aquí son los correspondientes al efecto que el trasplante realizado en el campo con plantas del fenotipo rojo tuvo sobre la concentración de Betacianinas de las mismas, con respecto al realizado en invernadero .Los datos correspondientes al período de los días 64 al 100 son los mismos que aquéllos presentados para el mismo fenotipo con desarrollo completo en invernadero.

Como fue descrito previamente, el efecto del primer trasplante de los amarantos fue decisivo incrementando en éstos la

concentración de Betacianinas, sin embargo, ésto fue superado considerablemente por el efecto que en las plantas tuvo el trasplante realizado en el campo.

Los resultados presentados en la gráfica correspondiente a la figura 12, son evidencia del fenómeno descrito en el párrafo anterior. En la misma, es posible observar que los valores de las concentraciones máximas de Betacianinas alcanzada durante el segundo trasplante fueron de 236.4 uM Bc/gr tej. fresco con respecto a los 101.4 uM Bc/gr tejido fresco alcanzada como concentración máxima durante el trasplante realizado en el invernadero, es decir, que en el segundo trasplante, se observó en la planta un incremento en la concentración de Betacianinas de 132.84%. Asimismo la concentración máxima 236.4 uM Bc/gr tej fresco que con respecto a los 101.4 uM Bc/gr tej fresco alcanzada como concentración máxima durante el trasplante realizado en el invernadero, representó en las plantas un incremento en la concentración de Betacianinas de 132.84 % . Igualmente, la concentración máxima 236.4 uM Bc/gr tej fresco alcanzada en los tejidos de los amarantos trasplantados en el campo, representó una diferencia sustancial con respecto a los 27.5 uM Bc/gr tej fresco en el lote B, durante el período que comprendió del día 64 al 91, lo que indica que el trasplante realizado en el campo indujo un incremento en la concentración del metabolito con respecto al anterior de un 655. 27 %.

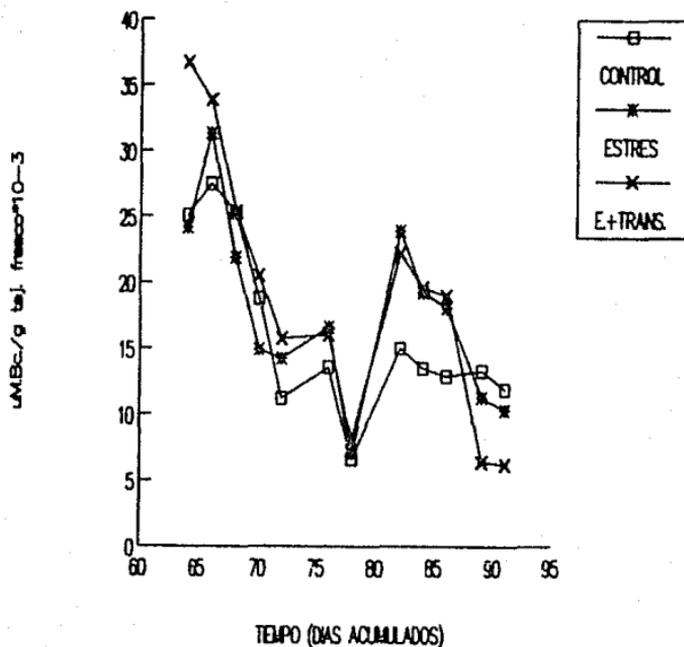


FIG. 10.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETA
 CIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO ROJO DE *Ama-*
ranthus hypochondriacus L. TIPO ARIZONA DURAN
 TE EL PERIODO EN EL CUAL SE INDUJO EL ESTRES
 HIDRICO MEDIANTE LA DISMINUCION GRADUAL DEL SU
 MINISTRO DE AGUA. CADA PUNTO CORRESPONDE AL
 PROMEDIO DE CINCO HOJAS.

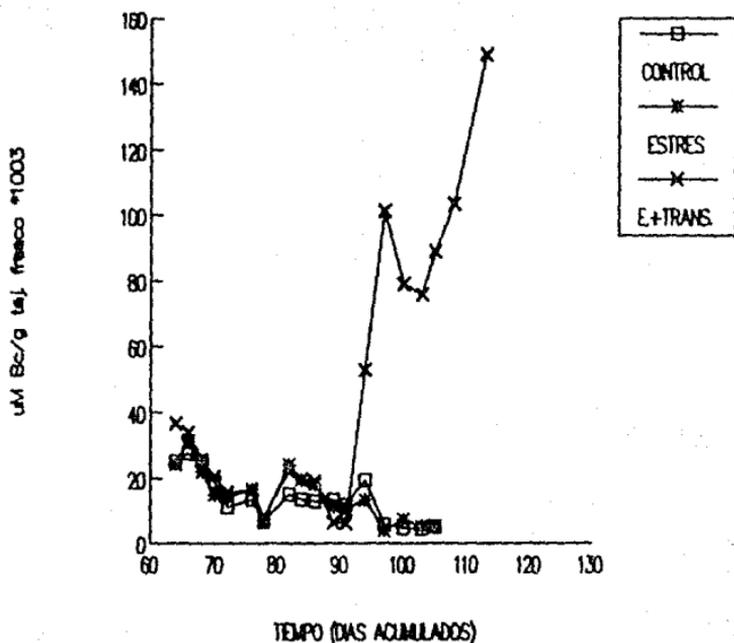


FIG. 11.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO ROJO DE *Amaranthus hypochondriacus* L. TIPO ARIZONA BAJO ESTRES HIDRICO. LOS PUNTOS COMPREDIDOS ENTRE LOS DIAS 64 Y 91 CORRESPONDEN A LA INDUCCION DEL ESTRES MEDIANTE LA DISMINUCION GRADUAL EN EL SUMINISTRO DE AGUA. LOS PUNTOS COMPREDIDOS ENTRE LOS DIAS 91 Y 103, CORRESPONDEN AL PRIMER TRASPLANTE Y LOS COMPREDIDOS DEL DIA 103 EN ADELANTE, CORRESPONDEN AL SEGUNDO TRASPLANTE AMBOS REALIZADOS EN EL INVERNADERO. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE CINCO HOJAS.

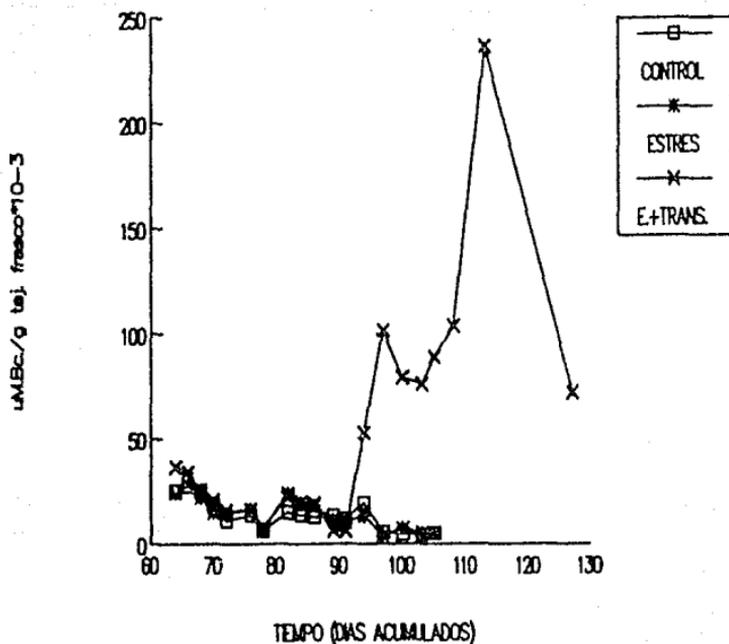


FIG. 12.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO ROJO DE *Amaranthus hypochondriacus* L. TIPO ARIZONA. LOS PUNTOS COMPRENDIDOS ENTRE EL DIA 64 Y 91 CORRESPONDEN AL PERIODO EN EL CUAL SE INDUJO EL ESTRES HIDRICO - EN LAS PLANTAS MEDIANTE LA DISMINUCION GRADUAL DEL SUMINISTRO DE AGUA. LOS PUNTOS COMPRENDIDOS ENTRE LOS DIAS 91 Y 103 CORRESPONDEN AL EVENTO DEL TRASPLANTE EN INVERNADERO Y LOS PUNTOS DEL DIA 103 EN ADELANTE CORRESPONDEN A LOS CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DEL METABOLITO DURANTE EL TRASPLANTE REALIZADO EN EL CAMPO.

6.1.3.- EFECTO DEL ESTRES HIDRICO EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN LAS PLANTAS DEL FENOTIPO VERDE CON DEBARROLLO COMPLETO EN INVERNADERO.

En la gráfica correspondiente a la figura 13 son mostrados los datos que correspondieron a la variación en la concentración de Betacianinas en plantas del fenotipo verde hasta antes del primer trasplante. Ahí es posible observar que durante el período que comprendió del día 64 al 72 se observó en los tres lotes un decremento en la concentración del metabolito, sin embargo, en el lote A' y C' al llegar al día 76, y en el lote B' al cumplir los 78 días acumulados, tuvo lugar un incremento en la concentración de Betacianinas. Cuando se alcanzó la segunda concentración máxima de Betacianinas en las plantas de los diferentes lotes, los valores de tales concentraciones fueron semejantes a las iniciales. Asimismo en cuanto se alcanzaron las concentraciones máximas, también tuvo lugar un decremento en la concentración del metabolito al igual que en la etapa inicial .

En la figura 14, además de mostrar los eventos correspondientes al período comprendido hasta antes del primer trasplante (amplificados en la figura 13) son mostrados los datos correspondientes al efecto que en la planta tuvo el primer trasplante realizado con ellas en el invernadero, mismo que provocó cambios drásticos en la concentración de Betacianinas, la cual, con respecto a la concentración máxima alcanzada hasta antes del primer trasplante, se incrementó en un 189.95% respecto al lote A', y un 180.97% con respecto al B'.

Aunque las concentraciones durante el primer trasplante

realizado con las plantas en el invernadero fueron superiores con respecto a la concentración máxima alcanzada durante el período previo al mismo, el segundo trasplante realizado con una porción de las plantas del mismo lote en condiciones similares al del primer trasplante, superó considerablemente las concentraciones máximas alcanzadas durante el primero, pues mientras la concentración máxima durante el primer trasplante fue de 63.5 μM Bc/gr tej fresco, la concentración máxima alcanzada en los tejidos durante el segundo trasplante de los amarantos efectuado en el invernadero fue de 169 μM Bc/gr tej fresco, es decir, que este segundo superó por 18.81 al primero. Con relación a la máxima concentración de betacianinas alcanzadas en los lotes A' y B' durante el período en que se aplicó el tratamiento de disminuir gradualmente el suministro de agua para inducir la síntesis de Betacianinas, el segundo trasplante en el invernadero superó a la concentración máxima alcanzada en cada lote durante ese período por 621.4 % en el lote B' y este superó a la diferencia entre la máxima concentración alcanzada durante el período de disminución de agua la máxima concentración del primer trasplante por 431.45 y 418.14% en relación a los lotes A' y B'.

6.1.4 EFECTO DEL ESTRES DURANTE EL TRASPLANTE SOBRE LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN LAS PLANTAS DEL FENOTIPO VERDE DE

A. hypochondriacus TIPO ARIZONA CON DESARROLLO INVERNADERO - CAMPO.

Los datos correspondientes al período del día 44 al 91 y que corresponden a los eventos de a) inducción del estrés hídrico mediante la disminución gradual del suministro de agua y b) primer

trasplante en invernadero, son los mismos que los descritos para éste lapso de tiempo en el punto 6.1.3.

Por otra parte cabe señalar que, no existieron diferencias significativas entre el segundo trasplante realizado en el invernadero y el trasplante realizado en el campo (fig.15), pues mientras la concentración alcanzada en los tejidos de *A. hypochondriacus* L.tipo mercado trasplantados por segunda ocasión en el campo fue de 161.0 μM Bc/g tej fresco, siendo la concentración de betacianinas en los amarantos trasplantados por segunda ocasión en invernadero de 158 μM , lo cual representa una diferencia de únicamente 1.86 % .

6.1.5.- COMPARACION DEL EFECTO DEL ESTRES HIDRICO SOBRE LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS ENTRE LOS FENOTIPOS ROJO Y VERDE DE LAS PLANTAS DE *A hypochondriacus* TIPO ARIZONA.

Durante el período de tiempo que abarcó del día 64 al 91 en el que el tratamiento a la planta fue la inducción del estrés hídrico mediante la disminución gradual del suministro de agua a las plantas, en la relación fenotipo rojo-fenotipo verde, el primero superó al segundo en su concentración máxima de Betacianinas por un 25.57% en el lote control, por un 167.52 % en el lote de estrés y por un 69.12% en el lote de estrés y con cuyas plantas se realizaron después de los trasplantes.

En forma similar las concentraciones máximas de Bc. alcanzadas por el fenotipo rojo durante el primer trasplante fue de 101.4 μM . Bc/gr tej fresco mientras que en el fenotipo verde fue de 63.5 μM Bc/gr tej fresco. Es decir que, el fenotipo rojo superó por 59.68% a la concentración máxima alcanzada en las

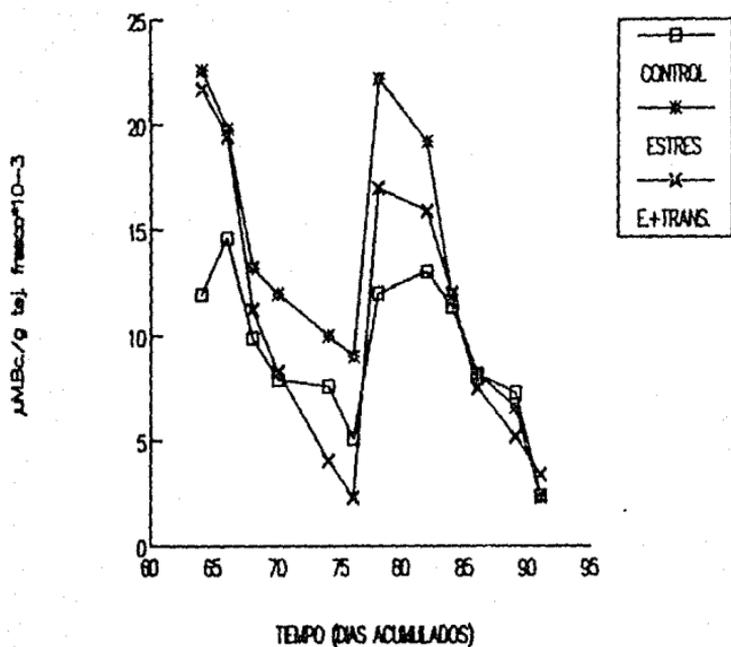


FIG.13.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO VERDE DE *A. hypochondriacus* L. TIPO ARIZONA DURANTE EL PERIODO DE TIEMPO EN EL CUAL SE INDUJO EL ESTRES HIDRICO MEDIANTE LA DISMINUCION GRADUAL DEL SUMINISTRO DE AGUA. CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE CINCO HOJAS.

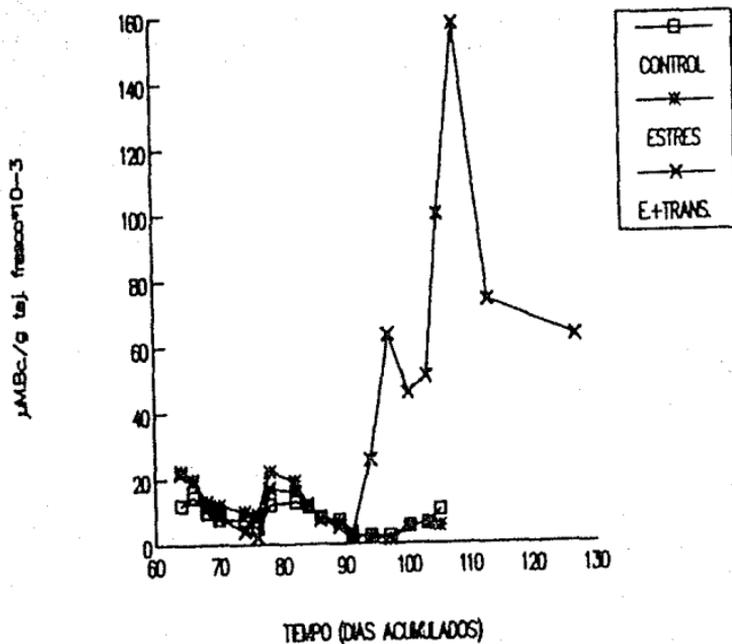


FIG.14.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO VERDE DE *Amaranthus hypochondriacus* L. TIPO ARIZONA SOMETIDAS A ESTRES HIDRICO. LOS PUNTOS COMPRENDIDOS ENTRE LOS 64 Y 91 DIAS CORRESPONDEN A LA INDUCCION DEL ESTRES INDUCIDO MEDIANTE LA DISMINUCION GRADUAL DEL SUMINISTRO DE AGUA. LOS PUNTOS ENTRE LOS 91 Y 103 DIAS CORRESPONDEN AL PRIMER - TRASPLANTE Y LOS COMPRENDIDOS DEL DIA 103 EN ADELANTE CORRESPONDEN AL SEGUNDO TRASPLANTE, AMBOS REALIZADOS EN EL INVERNADERO. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE CINCO HOJAS.

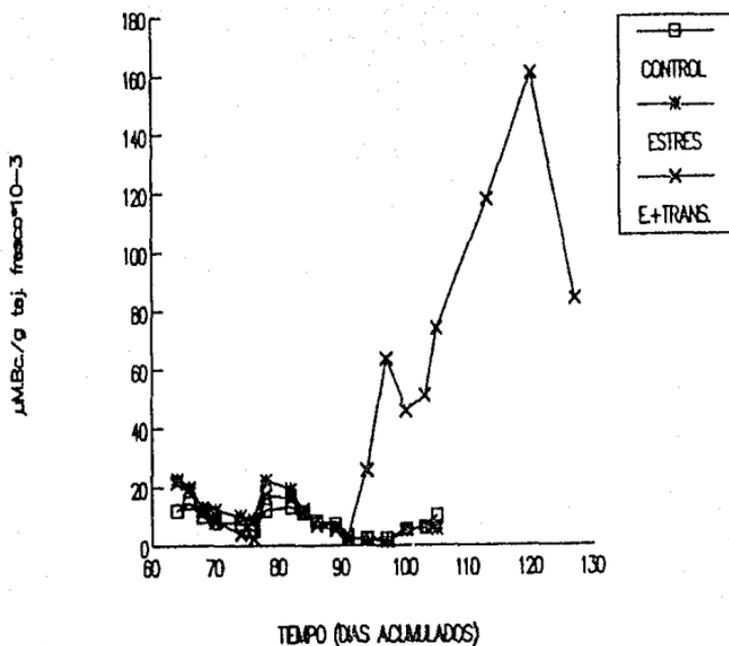


FIG. 15.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN PLANTAS DEL FENOTIPO VERDE DE *A. hypochondriacus* TIPO ARIZONA. LOS PUNTOS ENTRE LOS DÍAS 64 Y 91 CORRESPONDEN AL PERIODO EN EL CUAL LA INDUCCION DEL ESTRES SE REALIZO MEDIANTE LA DISMINUCION GRADUAL EN EL SUMINISTRO DE AGUA A LAS PLANTAS. LOS PUNTOS COMPRENDIDOS ENTRE LOS DÍAS 91 Y 103 CORRESPONDEN AL TRASPLANTE REALIZADO EN EL INVERNADERO Y LOS COMPREDIDOS DEL DIA 103 EN ADELANTE CORRESPONDEN AL TRASPLANTE REALIZADO EN EL CAMPO. CADA PUNTO ES EL PROMEDIO DE CINCO HOJAS.

plantas del fenotipo verde durante esta etapa.

Durante el segundo trasplante realizado con las plantas en el invernadero se observó que el fenotipo verde alcanzó una concentración máxima de 158 μM Bc/gr tej fresco lo que en relación a los 118.3 μM Bc/gr tej fresco alcanzada como concentración máxima en el fenotipo rojo, representó un incremento mayor del metabolito en el fenotipo verde.

La otra porción del fenotipo rojo, cuyo segundo trasplante se realizó en el campo, superó a la concentración máxima de Betacianinas de las plantas del fenotipo verde que también fueron trasplantadas en el campo por un 100.33 %, pues mientras en el lote rojo se alcanzó una concentración de 236.4% μM Bc/gr tej fresco, en el verde, la concentración máxima fue solo de 118 μM Bc/gr tej fresco.

En las gráficas correspondientes a las figuras 11 y 12, se muestra que si bien, al principio del experimento, inmediatamente después de que se empezó a disminuir el suministro de agua a las plantas sometiénolas de esta forma al estrés hídrico, se presentó un cierto incremento de Betacianinas, lo cual quiere decir que el estrés de agua afectó de alguna forma al mecanismo de síntesis del metabolito, también es posible apreciar que posterior al incremento de Betacianinas, se presentó un descenso casi inmediato en la cantidad del metabolito presente en los tejidos vegetales. Esto concuerda con lo referido por Elliott (1987b) en cuanto a que, si la restricción en la disponibilidad de agua persistía, ya sea por el no suministro del líquido (como en esta parte del estudio), o

por agregar al agua agentes osmóticos externos (como en la segunda parte del trabajo), el estrés de agua resulta inhibitorio del metabolito.

Los eventos descritos hasta el momento tienen una relación estrecha con algunos de los fenómenos previamente descritos por varios autores entre los que es posible mencionar a Elliott (1979b); Mabry (1980) y Piatelli (1964b). Ellos han advertido que las variaciones en la concentración de Betacianinas en los tejidos vegetales observados a lo largo de diferentes experimentos, son el resultado de la variación de factores tanto internos como externos, teniendo el agua un papel importante entre éstos. De aquí se podría asumir que si el agua tiene una importante función en el metabolismo vegetal, el estrés de agua modula de alguna forma la producción del metabolito.

También es importante señalar que Von Elbe, 1981, menciona que el nivel del metabolito en la planta al principio de determinados tratamientos, así como su posterior disminución, podría estar relacionado de alguna forma con el contenido de agua del vegetal al inicio, es decir que, el contenido de agua es de gran importancia en relación con la magnitud de la respuesta Betacianinínica. Mediante el presente trabajo, se plantea no solo lo anterior, sino que las variaciones del estatus hídrico podrían tanto favorecer, como inhibir la acumulación del metabolito.

Por otra parte cabe la posibilidad de señalar que el estrés

de agua provoca una serie gradual de trastornos en las reacciones hidrolíticas, lo que en un momento determinado, podría alterar algunos de los procesos de conversión de Tirosina a Betacianinas.

En las mismas gráficas (11 y 12) es posible observar que a la mitad del período en el cual a las plantas se les restringió el suministro de agua, tuvo lugar un segundo incremento en la concentración del metabolito y dado que tales incrementos no se presentaron únicamente en las plantas sometidas al estrés, sino también en las control, tal incremento no se pudo relacionar propiamente al tratamiento sino a un efecto secundario del mismo.

Igualmente es importante señalar que, cuando una planta esta sometida al estrés tanto por temperatura, luz o agua, ésta libera etileno. Este ha sido reportado en la literatura como un posible inductor de las Betacianinas (Keith, A. 1977). Es por tal motivo que, el incremento mencionado también pudo estar asociado con el efecto que sobre las plantas control ejerció el etileno liberado por las plantas tratadas. Por otra parte, los cambios en la concentración de Betacianinas durante este período del estudio pudieron haber sido asociados a los cambios medioambientales ocurridos durante ese tiempo en el cual tuvo lugar la "canícula de verano".

Respecto al efecto que sobre las Betacianinas tuvo el trasplante realizado tanto en el invernadero como en el campo (fig. 12 y 15), esto fue un factor que afecto en forma importante la síntesis de Betacianinas las cuales se incrementaron durante este evento tanto en plantas del fenotipo rojo como del verde. Es

importante señalar que en las plantas fue mayor el efecto del trasplante realizado en el campo que aquél realizado en el invernadero, aún cuando se utilizó el mismo suelo, lo cual coincide con lo señalado en la literatura por Medina (1977) quien indica que "plantas de la misma especie en diferentes lugares se ven afectados en distinta forma por la sequía", debido probablemente a que en este se conjugan factores como luz, temperatura y agua, entre otros. Estos factores se encuentran involucrados en la respuesta Betacianinica de la planta, aunque en este fenómeno existen variaciones intraespecíficas de los patrones de Betacianinas resultantes de diferentes estados fisiológicos, de su desarrollo a través de diferentes estaciones durante un mismo período y de la variabilidad genética de la población. (Larcher, 1977). En relación a lo anterior, es importante implementar nuevas investigaciones en este sentido.

Por último, aunque al principio de esta etapa del estudio las concentraciones de Betacianinas en los tejidos de las plantas del fenotipo verde era baja, las misma como ya se ha señalado se incrementaron considerablemente después del trasplante por lo cual se plantea que además de que éste evento es regulado por las condiciones hídricas, también lo es a nivel genético. La discusión de este punto será retomada y ampliada en la parte final de los resultados correspondientes a la segunda etapa del trabajo.

6.2.- RESULTADOS CORRESPONDIENTES A LA SEGUNDA ETAPA DEL TRABAJO.

6.2.1.- CAMBIOS EN EL CONTENIDO RELATIVO DE AGUA (CRA).

En la literatura han sido referidos varios métodos o parámetros indicativos del cambio del contenido relativo de agua (CRA) relacionados con variaciones en la concentración de diferentes metabolitos. Entre estos métodos se menciona que el peso específico de la hoja ($\frac{V_{\text{foliar}}}{\text{Área foliar}}$) es un parámetro indicativo de cambios en el aparato enzimático y de la acumulación de metabolitos. El grosor de la hoja con métodos histométricos, es otro parámetro morfológico indirecto de la acumulación de productos secundaris. Por último y relacionado con este aspecto, cabe mencionar los trabajos realizados por Ritchter, 1978 (citado en del Río, 1988). El indica que es posible utilizar el CRA como una medida del volumen celular por lo que al determinar el CRA se podría determinaren forma indirecta si existe alguna correlación entre éste y los cambios de la actividad enzimática, acumulación de metabolitos y transporte de electrolitos.

Tomando como base lo anterior, durante el presente trabajo se decidió utilizar al CRA como un posible indicador indirecto de las variaciones en la acumulación de Betacianinas en las plantas sometidas a éstres de agua.

Como es posible observar en las gráfica correspondiente a la figura 16, el CRA del lote control disminuyó desde el inicio del experimento hasta el día 42, presentándo valores relativamente bajos (77.1%) en relación con aquéllos establecidos para plantas sometidas a estrés, tales eventos podrían explicarse de la siguiente manera:

a) Los métodos empleados en la determinación del CRA no fueron los más adecuados ya que aunque se siguió la metodología sugerida, es decir la de medir el CRA en discos de hojas por considerar que aquí no tiene lugar un incremento celular, tal vez esto si se presentó lo cual interfirió en la toma de un correcto peso de turgencia (pt) y por ende, en el CRA de las hojas control.

b) El CRA es solamente un parámetro indirecto con el que se puede estimar el Balance hídrico de una planta, pero que para obtener un balance se debe conocer la diferencia entre la captación de agua y las pérdidas de ésta, así:

BALANCE HIDRICO • ABSORCION • TRANSPIRACION.

Lo anterior sería posible obtenerlo al realizar una curva depresión-volumen.

Sin embargo a pesar del fenómeno observado en las plantas del lote control, a través del experimento existieron diferencias considerables entre los valores del contenido relativo de agua entre las plantas control y aquellas que fueron sometidas al estrés mediante solución de NaCl 300 mM y PEG (6 000) 4%, lo cual quiere decir que tales tratamientos como se pretendió, sí tuvieron efecto al inducir en las plantas el estrés hídrico.

Así, aunque en el día 33, en que se tomó la primera muestra después de aplicar los tratamientos, se observó un incremento en el CRA tanto en el lote control como en aquél que tuvo el tratamiento de NaCl 300 mM, en el siguiente punto (38 días

acumulados el CRA descendió en los 3 lotes comenzó a descender, presentando el lote control un CRA de 84.4% , en el lote con NaCl 300 mM un CRA de 76.6% y en el lote con PEG (6000) de 66.8 % , es decir que en esta fecha con respecto al control, el lote dos disminuyó su CRA en un 9.24 % y el tres en 20.85 % .

A los 42 días de edad de las plantas, aquéllas que conformaron los lotes 2 (NaCl 300 mM) y 3 (PEG 6000 4%), fueron liberados del estrés suministrando a las mismas la solución correspondiente al lote control (Hogland). Cuatro días después, es decir a los 46 días acumulados, se observó un incremento del CRA de las plantas de los lotes tratados, lo cual es una evidencia de lo que señaló Levitt en 1972 (citado en Salisbury, 1985) respecto a que "existen dentro de los organismos sometidos al estrés una capacidad de elasticidad regresando al estado original cuando el organismo se desarrolla en condiciones mas favorables". Por otra parte, aunque durante el período de liberación de estrés se observó un decremento en el CRA de esas plantas, tal baja fue menor que aquéllas registradas entre el lote control y los lotes con NaCl 300 mM y el de PEG (6 000)4 % cuando éstas se encontraron sometidas al estrés.

En la misma figura (16) también es posible observar que a los 58 días acumulados, la diferencia entre los CRA en el lote con NaCl 300 mM fue de 53.7% mientras que en el lote con PEG (6000) 4% fue de 44% con respecto al control cuyo, CRA fue en esa fecha de 77 %. Las diferencias finales entre el CRA del lote control y el de NaCl 300 mM fue de 30.25 % y entre el control y PEG (6000) 4% fue de 36.36 %.

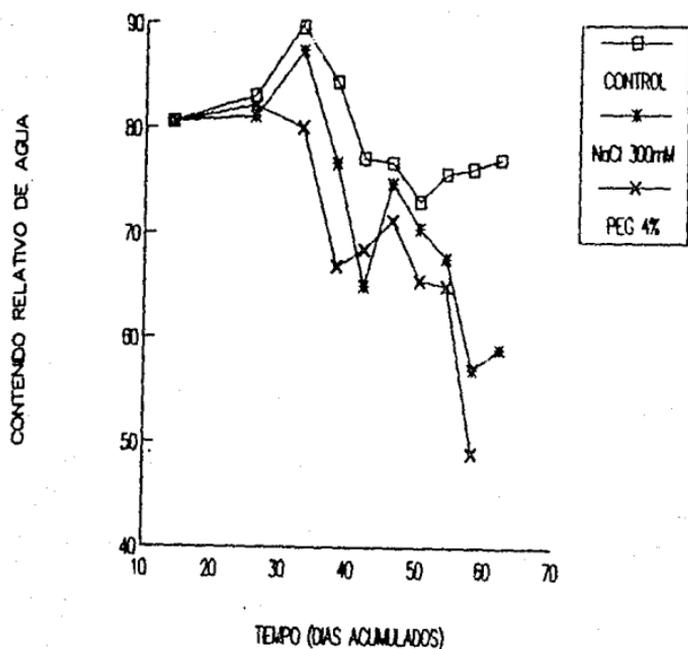


FIG. 16. VARIACION EN EL CRA EN HOJAS DE PLANTAS COMPLETAS DE *A. hypochondriacus* TIPO MERCADO DE 14 A 62 DIAS DE EDAD. EN LA CUANTIFICACION SE EMPLEARON DISCOS. LOS PUNTOS COMPRESIDIDOS DEL DIA 14 AL 28 CORRESPONDEN AL PERIODO EN QUE A TODAS LAS PLANTAS SE LES REGO CON SOLUCION DE HUGLAND. LOS PUNTOS COMPRESIDIDOS ENTRE LOS DIAS 28 AL 42 CORRESPONDEN AL PERIODO DURANTE EL CUAL TUVO LUGAR LA PRIMERA ETAPA DE TRATAMIENTO. LOS PUNTOS COMPRESIDIDOS DEL 42 AL 51 CORRESPONDEN A LOS CAMBIOS DE CRA DURANTE LA LIBERACION DEL ESTRES Y LOS PUNTOS DEL DIA 51 EN ADELANTE SON LOS CAMBIOS PRESENTADOS DESPUES DE LA REINSTALACION DEL ESTRES. CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE 4 HOJAS.

6.2.2.- EFECTO DEL ESTRÉS HIDRICO INDUCIDO MEDIANTE SOLUCIONES DE NaCl 300 mM Y PEG (6000) 4 % SOBRE LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN TALLOS Y LAMINAS FOLIARES DE PLANTAS COMPLETAS DE *Amaranthus hypochondriacus* TIPO MERCADO.

A partir del día 26, al iniciar los tratamientos aplicando al lote 2 la solución de NaCl 300 Mm y al lote 3 la solución de PEG (6000) 4% , se advirtió que mientras en los tallos de las plantas que conformaron el lote control comenzó a disminuir paulatinamente la cantidad de Betacianinas , en los tallos de las plantas tratadas se observó una tendencia a incrementar la cantidad del metabolito y enseguida un descenso del mismo por lo cual aunque se podría considerar que esto no es un fenómeno real, aunque se debe considerar que esta apariencia quizá se deba que el intervalo de tiempo en la toma de las distintas muestras fue corto.

De tal forma, se podría indicar que, aunque si bien, el estrés osmótico y salino influyen sobre la síntesis de Betacianinas, dado que los agentes empleados para inducir tales condiciones modifican el estado termodinámico del agua, mismo que es más importante que la cantidad de ésta disponible por la planta, no se podría establecer con precisión si el estrés al cual se encontraron sometidos los amarantos actuó favoreciendo su acumulación, retardando su degradación o disminuyendo su síntesis. Por otra parte lo anterior nos hace pensar que, tanto la amplia acumulación del metabolito después de estos eventos, está regulada por el desarrollo normal de la planta y esto debido probablemente a un control genético.

La concentración observada después de nueve días de iniciado el tratamiento en el tallo de las plantas tratadas con NaCl 300 mM fue de 312 μM Bc/gr tej fresco mientras que en el lote control la concentración fue de 147.6 μM Bc/gr tej. fresco, es decir que el lote con NaCl 300 mM superó al control por 111.38 %. En forma semejante se observó que 5 días después de aplicar a las plantas del lote 3 la solución de PEG (6000) 4% tuvo lugar el incremento del metabolito en los tallos de esas plantas alcanzando una concentración de 269.2 μM Bc/gr tej fresco lo cual, con respecto a la concentración del metabolito en el lote control mostró una diferencia de 183.2 % (figs. 17 y 18).

Los resultados correspondientes al efecto que sobre la concentración de Betacianinas en hojas tuvo el estrés hídrico inducido mediante NaCl 300 mM y PEG (6000) 4 % son mostrados en la gráficas correspondientes a las figuras 19 y 20, en ellas es posible apreciar que hasta los 33 días acumulados, fecha que se tomó la segunda muestra después de haber aplicado al lote 2 a la solución de NaCl 300 mM y al lote 3 la solución de PEG (6000) 4 %, mientras que en los tallos se presentaron diferencias en la concentración de Betacianinas entre el lote 1 (control) , 2 (NaCl 300 mM) y 3 (PEG 6000 4%) , en las hojas hasta esa fecha no existieron diferencias importantes entre los tratamientos. Así, mientras en el lote control la concentración fue de 122.2 μM Bc/gr tej fresco, la cual incluso superó a la concentración del metabolito alcanzada en el lote 2, ya que en esta fecha en las plantas del lote mencionado fue únicamente de 87.4 μM Bc/gr tej.

fresco. Por otra parte, aunque a los 42 días acumulados las concentraciones del metabolito fueron de 44.56% en el lote 2 y de 54.81% en el lote 3 (superando a la del lote control), las concentraciones de Betacianinas descendieron en los tres desde el principio del experimento y hasta el final del mismo, es decir, se siguió un mismo patrón.

Recordando que tanto los organismos que carecen del suministro de agua, como aquéllos que se encuentran en sustratos con concentraciones significativas de iones salinos o agentes osmóticos externos, están sometidos a estrés de agua, el cual influye de manera decisiva en sus células en donde se ve incrementada la concentración de solutos presentando potenciales de agua negativos. Ante la carencia del líquido vital, las plantas han desarrollado una serie de mecanismos que aumentan su probabilidad de sobrevivencia en tales condiciones.

Entre estos mecanismos es posible mencionar al ajuste osmótico, durante el cual la planta aumenta el contenido de solutos (por síntesis o por transporte de iones y metabolitos al interior de las células) con lo que logra un potencial menor al de los solutos y por consiguiente tienden a absorber agua (Fitter, 1987). Por otra parte, el mismo autor opina que "las plantas cultivadas raramente experimentan estrés salino severo y que éste tipo de plantas muestran una capacidad de exclusión a diferencias osmóticas", por lo que cabría la posibilidad de que la tendencia al incremento de Betacianinas ocurrido nueve días después de iniciados los tratamientos en los tallos de los amarantos bajo estrés, haya sido un mecanismo asociado al probable ajuste

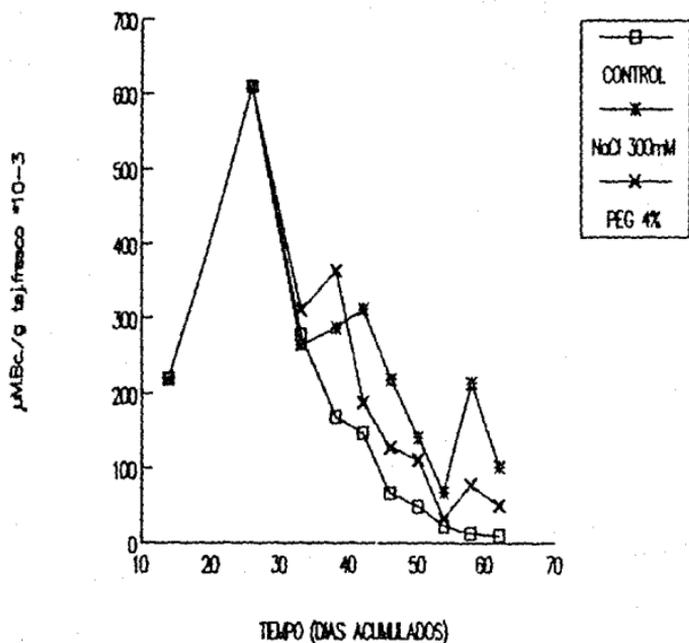


Fig. 17. CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN TALLOS DE PLANTAS DE *Amarantus hypochondriacos* TIPO MERCADO. DURANTE LOS DIAS 14 y 28 SE DISMINUYO GRADUALMENTE EL SUMINISTRO DE AGUA. EL PERIODO DEL DIA 42 AL 54 CORRESPONDE A LA LIBERACION DEL ESTRES Y DEL 54 EN ADELANTE A LA REINSTALACION DEL ESTRES. CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE CUATRO PLANTAS

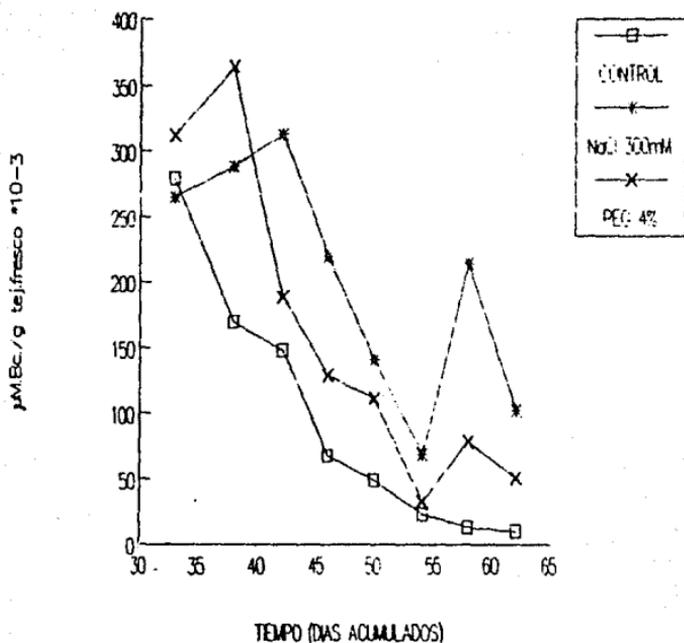


FIG. 1. CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN LOS TALLOS DE PLANTAS DE *Amarathus hypochondriacus* L. TIPO MERCADO. AMPLIFICACION DE LOS EVENTOS COMPRENDIDOS ENTRE EL DIA 31 Y EL FINAL DEL EXPERIMENTO. AQUI SE MUESTRAN DE UNA MANERA MAS CLARA LOS CAMBIOS DE LA CONCENTRACION DEL METABOLITO DURANTE LOS EVENTOS DE LA LIBERACION DEL ESTRES (ENTRE LOS DIAS 42 Y 54) ASI COMO LA REINDUCCION (A PARTIR DEL DIA 54) CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE 4 TALLOS.

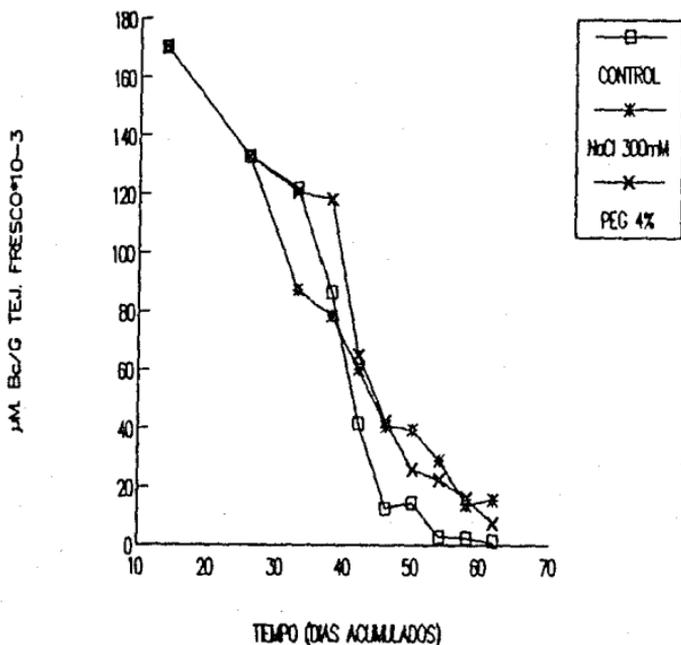


FIG. 19. CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN HOJAS DE PLANTAS DE *Amaranthus hypochondriacus* L. TIPO MERCADO. DURANTE LOS DIAS 14 A 28 SE DISMINUYO GRADUALMENTE EL SUMINISTRO DE AGUA. EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE LOS DIAS 42 Y 54 CORRESPONDE A LA LIBERACION DEL ESTRES Y A PARTIR DEL 54 EN ADELANTE A LA REINDUCCION DEL MISMO. CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE CUATRO HOJAS.

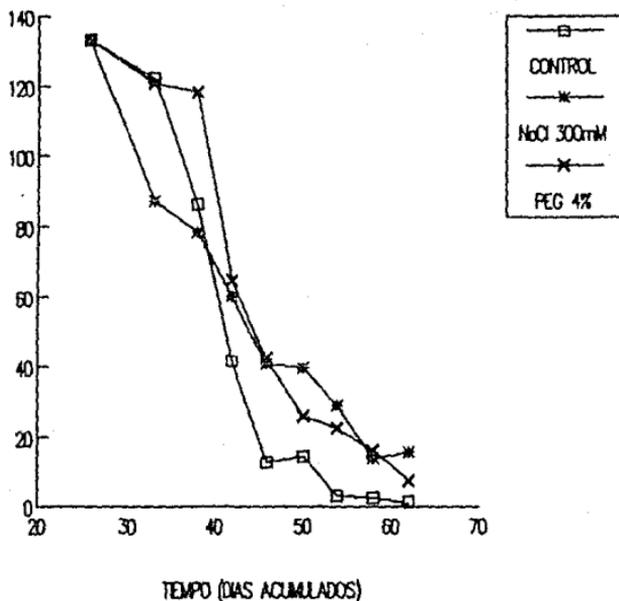


FIG. 20 CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE BETACIANINAS EN HOJAS DE PLANTAS DE *Amaranthus hypochondriacus* L. TIPO MERCADO. AMPLIFICACION DE LOS EVENTOS A PARTIR DEL DIA 26 Y HASTA EL FINAL DEL EXPERIMENTO. AQUI ES POSIBLE - OBSERVAR DE UNA MANERA MAS CLARA LOS CAMBIOS DE CONCENTRACION DEL METABOLITO DURANTE LOS EVENTOS DE LIBERACION DEL ESTRES (ENTRE LOS DIAS 42 Y 54) ASI COMO LA REDUCCION DEL MISMO. CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE CUATRO HOJAS.

osmótico realizado en estas plantas.

La explicación a que la concentración del metabolito haya sido más baja en hojas que en tallo, podría asociarse a que son precisamente las hojas, las zonas de mayor evaporación de la planta y que debido a ello, el estrés tuviera un efecto mayor en el área foliar que en los tejidos que constituyen el tallo y por tanto las condiciones durante el estrés sean todavía más adversas en las hojas y por ello los mecanismos que dan lugar a la síntesis de las Betacianinas hayan sido más afectadas en esta zona, impidiendo la síntesis del metabolito.

Respecto a las sustancias empleadas para inducir el estrés hídrico en las plantas, en la literatura ha sido mencionado lo siguiente:

a) El cloro y el sodio son dos de los iones que comúnmente alcanzan concentraciones suficientes en las soluciones para causar problemas osmóticos y que presentan una especificidad iónica tóxica (Fitter, 1987). También se ha mencionado que los daños ocasionados por toxicidad iónica produce un desequilibrio en la toma y uso de recursos debido al efecto que estos iones tienen sobre el metabolismo celular o bien por una competencia en la interacción de los mismos, es decir, transporte mediado por competidores por ejemplo Na^+ y K^+ o Na^+ y Cl^-

En base a lo anterior, el incremento de Betacianinas en los tejidos de plantas sometidas al estrés hídrico mediante una solución de NaCl 300 mM, podría estar en relación en primer lugar a que el NaCl , produce un potencial de agua negativo en la planta con lo cual tendría lugar un ajuste osmótico, y por consiguiente

un incremento de solutos entre los que podrían involucrarse los cromóforos nitrogenados cargados iónicamente al igual que los osmorreguladores típicos. Con respecto al PEG como un agente osmótico externo se menciona que cuando el estrés hídrico es producido por éste durante el proceso de inducción, tiene lugar una marcada inhibición de la síntesis o concentraciones muy bajas de Betacianinas (Steuter, 1981). Se ha sugerido que lo anterior ocurre por la susceptibilidad del conducto de aminoácidos y perfiles polisómicos al estrés de agua y por que la inhibición de la síntesis del metabolito cuando las condiciones de estrés se prolongan están asociadas a daños en la síntesis proteica, de algunos conductos de aminoácidos (el de la tirosina) y de la síntesis de algunas enzimas.

En la literatura también ha sido mencionado que cuando la inducción tiene lugar bajo condiciones de estrés, se genera una condición de potencial almacenado y que a esto puede seguir una serie de cambios en el transporte activo de iones originados por variaciones en la presión de turgencia (Elliott, 1979d) o de los cambios en los niveles de ciertas enzimas, dando como resultado el desarrollo de algunos componentes durante el pretratamiento. (Von Elbe, 1981).

Durante este estudio, se observó que inmediatamente después de que se dió un período de liberación del estrés y después de 8 días de que se reinstaló el mismo, la concentración del metabolito, tuvo un incremento en los tejidos del tallo. Así, a los 58 días de vida de las plantas, mientras en el lote control la concentración máxima fue de 13.2 μM Bc/gr tej fresco, en el

lote 2 (NaCl 300 mM) la concentración fue de 214 % con lo cual éste superó al control por un 1521%. Igualmente el lote 3 (PEG 4%) tuvo un incremento en la concentración del metabolito el cual con respecto al control fue de 485. 39 % , lo cual podría asociarse a la elasticidad fisiológica que presentan estos vegetales (Levitt, 1972 citado en Salisbury, 1985).

Retomando el punto en donde se considera que la síntesis de Betacianinas es un evento controlado en gran parte por aspectos genéticos, es importante destacar aquí las siguientes consideraciones:

Entre las plantas cultivadas se ha practicado desde hace aproximadamente 10 000 años una selección artificial con lo cual ha ido modificando las características genéticas, es decir que los cambios fenotípicos (p.ej. los cambios en los patrones de pigmentación de los amarantos de bido a las Betacianinas) no solo son el resultado del efecto que las variaciones medioambientales ejercieron en un período de tiempo, sino también de la selección de los organismos realizada por el hombre.

Ayala, 1984 señaló que la situación más común es que, las variaciones de un patrón metabólico, fisiológico sea debido más específicamente a un aspecto genético y parcialmente a un control ambiental.

Por otra parte Francis Galton (1822-1811) empleó los términos naturaleza y crianza para referirse a los papeles desempeñados por la herencia y el ambiente en la determinación de los rasgos cuantitativos. Ambos tipos de influencia, genética y ambiental suelen estar presentes simultáneamente.

Es importante mencionar que la variación de un rasgo que se debe a diferencias genéticas puede medirse por la heredabilidad del rasgo, un concepto propuesto por el genetista Jay L. Lush (citado en Ayala, 1984) utilizando la siguiente terminología:

H = heredabilidad.

V_T = la varianza fenotípica debida a diferencias genéticas entre los individuos.

V_G = la fracción de la varianza fenotípica debida a diferencias genéticas entre los individuos.

V_E = la fracción de varianza fenotípica debida a las diferencias en las condiciones medioambientales a las que los individuos a las que los individuos han sido sometidos.

Teniendo entonces que:

$$\text{HEREDABILIDAD} = \frac{V. \text{ genética}}{V. \text{ fenotípica}} = H = \frac{V_G}{V_T} = \frac{V_G}{V_G + V_E}$$

Con respecto a lo anterior se podría establecer que, probablemente la variación en la concentración de betacianinas bajo períodos en los cuales las plantas se encontraron bajo estrés, haya sido el resultado de una memoria genética adquirida en un período de tiempo en el cual esta especie al encontrarse bajo condiciones adversas adquirió esa ruta metabólica como un mecanismo de adaptación y que tal memoria durante este estudio se activó mediante los estímulos dados a las plantas tales como lo fueron la carencia de agua, la acumulación de iones en las células vegetales, así como como el suministro de agentes osmóticos externos los cuales impedían la toma de agua, es decir que estos

solamente modularon actividad genética. Igualmente se podría pensar que si las especies de amaranto en un momento determinado se encontraran bajo las mismas condiciones de presión selectiva, probablemente las tasas de betacianinas se mantendrían altas durante períodos largos de tiempo.

6.2.3.- INFLUENCIA DEL ESTRES HIDRICO OSMOTICO Y SALINO INDUCIDO MEDIANTE SOLUCIONES DE NaCl 300 mM Y PEG 6000) 4% SOBRE EL DESARROLLLO FISIOLOGICO DE LAS PLANTAS DE *A. hypochondriacus* L. TIPO MERCADO.

El agua desempeña en la planta un papel primordial, pues el metabolismo celular depende en gran parte del grado de hidratación de las células que la constituyen. Por ello al someter a las plantas al estrés hídrico, éste influye decisivamente en el desarrollo fisiológico de las mismas, pues como ya se ha mencionado, a medida que disminuye en las células su contenido de agua, se incrementan las concentraciones de solutos en las mismas, impidiendo al vegetal su desarrollo normal. De tal forma a medida que disminuye en las células su contenido de agua, en la planta se van afectando funciones vitales como la fotosíntesis y la respiración. En algunos casos la respuesta del crecimiento celular en plantas sometidas a estrés hídrico, se refleja en su retardo en el crecimiento de tallos.

En cuanto a las hojas, en casos de malos suministros de agua o cuando la planta se encuentra incapacitada para su toma, se ha observado que en las plantas existen patrones determinados mediante los cuales se tiende a disminuir tales deficiencias.

En la Naturaleza, se han observado varios patrones de

disposición y forma de las hojas en las plantas según las condiciones medioambientales en las que se encuentran, esos patrones han sido descritos mediante algunos modelos los cuales indican que la disposición y forma de las hojas en las plantas están relacionadas con una optimización en el uso de recursos, por ejemplo en la eficiencia del uso de agua. En plantas sometidas a estrés lumínico e hídrico hay un mayor recambio foliar (es decir, hojas, más pequeñas (pero más gruesas en términos de peso específico). Lo anterior tiene relación con que el agua se evapora proporcionalmente al área foliar, con lo cual la reserva del líquido de la hoja y en general de la planta se protege con un desarrollo menor de su superficie.

Aquí también es importante señalar que, sin embargo, en la Naturaleza en los vegetales la relación común es que hojas de "sol" presentan una mayor densidad estomática que las hojas de "sombra, habiendo de esta forma una mayor regulación estomática de la evapotranspiración.

Las gráficas que son mostradas en las figuras 21 y 22 son evidencia del efecto que el estrés de agua tuvo en las plantas. En ellas es posible observar que tales condiciones afectaron el desarrollo fisiológico de las mismas. Esto corrobora las ideas expuestas anteriormente.

Así, los tallos de las plantas que crecieron en el lote control alcanzaron un peso de hasta 8.44 gr. mientras que aquellas pertenecientes al lote 2 (NaCl 300mM) y el lote 3 (PEG 6000 4%) solo alcanzaron un peso máximo promedio de 0.46 gr y 0.68 gr respectivamente, es decir que las plantas no sometidas al estrés ,

superaron en el crecimiento a aquéllas del lote 2 (NaCl 300 mM) y del lote 3 (PEG 6000 4%) hasta por un 1932.5% a las plantas del lote 2 y por un 1140.29% a las del lote 3.

En las láminas foliares el peso máximo promedio del total de las mismas por planta que conformaron el lote 1 (control) fue de 6.48 gr. mientras que las láminas foliares de las plantas de los lotes 2 y 3 el peso máximo promedio del total de las láminas foliares por planta fue de 0.423 gr y 0.422 gr respectivamente. Respecto a las láminas foliares del lote control, éstas presentaron una diferencia de 1521% más que las plantas tratadas con NaCl 300 mM y de 1521% aquéllas sometidas a estrés mediante PEG (6000) 4%.

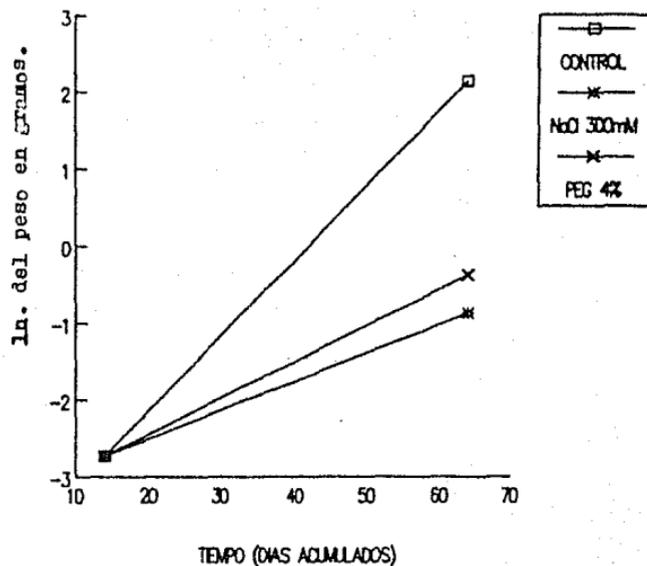
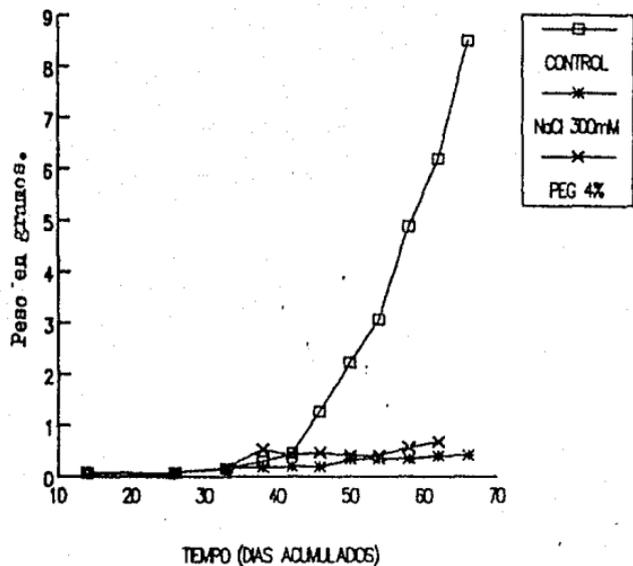
De acuerdo con lo anterior es posible observar que el crecimiento tanto de tallos como de láminas foliares de las plantas control presentó un crecimiento relativo (R) de tipo geométrico.

Tomando como base los datos anteriores es posible determinar que mientras el crecimiento relativo de los tallos del lote control fue de 0.0973, el de las plantas del lote 2 fue de 0.3716 y en el lote 3 de 0.4704 (fig 23).

Por otra parte se determinó que el crecimiento relativo en las láminas foliares del lote control fue de 0.1123 mientras que en el lote con NaCl (300 mM) y PEG (6000) 4% fue de 0.0547 y 0.6312 respectivamente (fig.24)

De tal forma podría señalarse que, "tanto las alteraciones de peso como talla de las plantas podría estar estrechamente relacionado con desequilibrios que produce el potencial hídrico en la planta afectando la toma eficiente de nutrimentos por efecto

directo de los iones tóxicos sobre el metabolismo de las raíces o simplemente por competencia entre la interacción de los iones y los nutrimentos" (Fitter, 1983).



FUGURA 21

- A) EFECTO DEL ETRES HIDRICO EN EL DESARROLLO FISIOLÓGICO DE PLANTAS DE *Amaranthus hypochondriacus* L. TIPO MERCADO. CAMBIOS EN EL PESO DE LOS TALLOS
 CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE CUATRO TALLOS.
- B) CRECIMIENTO RELATIVO (R) DE LOS TALLOS

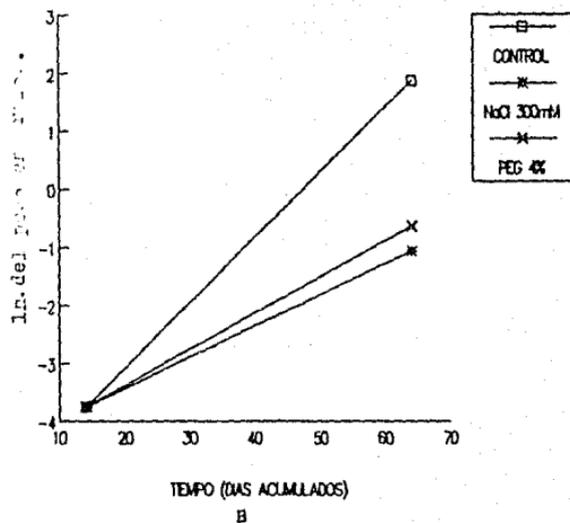
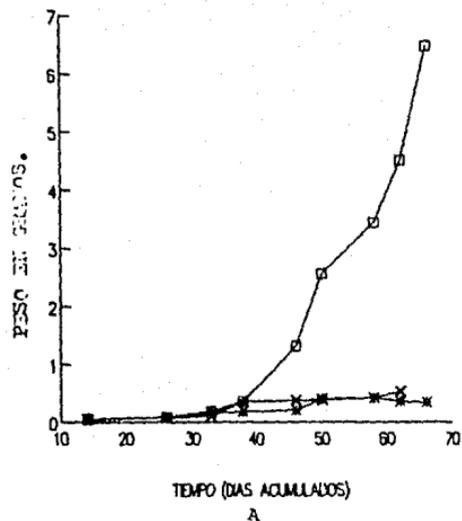


FIGURA 22

- A) EFECTO DEL ESTRES HIDRICO EN EL DESARROLLO FISIOLÓGICO DE PLANTAS DE Amaranthus hypochondriacus TIPO MERCADO. CAMBIOS EN EL PESO DE LAS LAMINAS FOLIARES. CADA PUNTO CORRESPONDE AL PROMEDIO DE CUATRO LAMINAS FOLIARES.
- B) CRECIMIENTO RELATIVO (R) DE LAS LAMINAS FOLIARES.

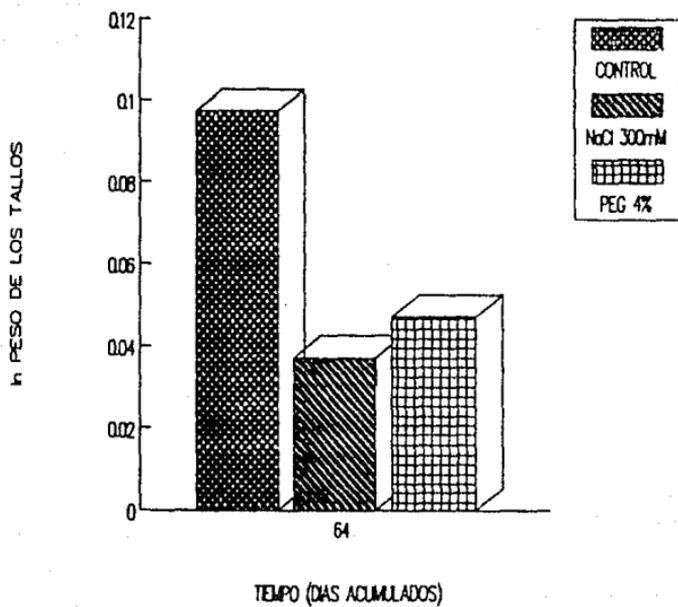


FIG. 23.-CRECIMIENTO RELATIVO DE TALLOS DE PLANTAS DE Amaranthus hypochondriacus L. BAJO ESTRES HÍDRICO.

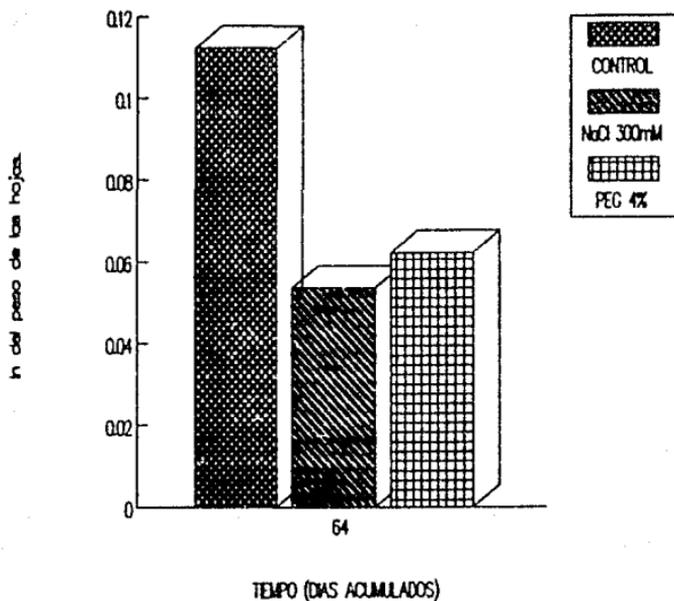


FIG. 24.- CRECIMIENTO RELATIVO DE LAS LAMINAS FOLIARES DE PLANTAS DE Amaranthus hypochondriacus . BAJO ESTRES HIDRICO.

VII CONCLUSIONES.

En plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. la síntesis de Betacianinas es afectada cuando las plantas se encuentran bajo estrés hídrico y/o salino, ante tal evento existen cambios en la concentración del metabolito en plantas de un mismo o diferente fenotipo.

En primera instancia, el estrés hídrico y/o salino, induce la síntesis de Betacianinas, pero si este persiste, es inhibida la producción de las mismas.

El trasplante, tanto en invernadero como en el campo de plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. es un evento que induce la síntesis de Betacianinas, esto puede ser una consecuencia del estrés hídrico durante el mismo, así como de un incremento en los niveles de citoquininas y iones K^+ .

El efecto del trasplante en las plantas es mayor cuando éste se realiza en el campo, dando como resultado una mayor concentración de Betacianinas en los tejidos de *Amaranthus hypochondriacus* L.

La acumulación de Betacianinas en plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L., tal vez sea un mecanismo asociado al ajuste osmótico que realizan estas cuando se encuentran ante condiciones adversas en relación a la disponibilidad y/o toma de agua.

Cuando plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. son sometidas a estrés hídrico y salino prolongado, éste no solo resulta inhibitorio para la síntesis de Betacianinas, sino también para el desarrollo fisiológico de las plantas, observándose en las mismas un decremento de su talla y peso.

PERSPECTIVAS.

Tomando en cuenta los eventos observados durante esta investigación, se sugiere se realicen estudios en relación a:

1.- Observar los cambios en los niveles de iones K^+ en los tejidos de *Amaranthus hypochondriacus* L. en relación a incrementos o decrementos de la concentración de Betacianinas.

2.- Observar si la acumulación de betacianinas es una causa o efecto del ajuste osmótico en plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. Bajo estrés hídrico.

3.- En el caso de que las Betacianinas estén relacionadas con el ajuste osmótico y por ende representen una protección a la planta en circunstancias de sequía, implementar técnicas genético-biotecnológicas que permitan manejar los genes involucrados en tal fenómeno.

4.- Tomando en cuenta lo anterior, trabajar en el mejoramiento de plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. en cuanto a su aspecto de resistencia a sequía y llevarlas a zonas semiáridas de nuestro país.

VIII REFERENCIAS

Aayashyi, H. (1979) Methoxy-1.4-benzoquinone and methyl gallate, inhibitory factors of betacyanin synthesis in *Amaranthus*, from psimmon fruits. *Agric. Biol. Chem* 43 (1): 113 - 119.

Alejandre, G., F. Gómez. (1986a). Ensayo sobre la fertilización en densidad de Población en Amaranato. (*Amaranthus hypochondriacus* L.) Memoria del Coloquio Nacional del Amaranato. Queréretaro, Qro. pp. 125 - 140.

Alejandre, G., F. Gómez. (1986b) Variabilidad en Tipo Criollo de Amaranato (*Amaranthus spp*) en la Región Central de México. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranato. Queréretaro, Qro. pp. 242 - 261.

Ayala, F. (1984) Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano. Barcelona, España. pp. 516-527.

Bidwell, R. (1976) Fisiología Vegetal. AGT Editor. S. A. México. p. 63 - 69.

Chang, Ch., L. Kimler & J. Mabry. (1974) Biogénesis of Betalamic Acid. *Phytochemistry* 13: 2771 - 2775.

Elliott, D. (1979a). Analysis of variability in the *Amaranthus* betacyanin assay for cytokinins. *Plant Physiol.* 63: 274 - 276.

Elliott, D. (1979b) Analisis of variability in the *Amaranthus* bioassay for cytokinins. Effects of water stress on benzyladenine- and fusicoccin dependent responses. *Plant Physiol.* 63: 269 - 273.

Elliott, D. et al. (1983c). Betacyanin decolorizing enzyme in *Amaranthus tricolor* seedlings. *Phytochemistry* 22 (2): 383 - 387

Elliott, D. (1979d) Ionic regulation for cytokinin- dependent betacyanin synthesis in *Amaranthus* - seedlings. 63: 256 - 268.

Elliott, D. (1979e). Temperature-dependent. Expression of betacyanin synthesis in *Amaranthus* seedlings I. 63: 277 - 279.

Elliott, D. (1979f). Temperature - sensitive responses of red light - dependent. *Plant Physiol.* 64: 521 - 524.

Espitia, E. (1986a) Plagas y Enfermedades del Cultivo del Amaranato (*Amaranthus spp*) en México. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranato. Queréretaro, Qro. pp. 233 - 238.

Espitia, E. (1986b) Situación actual y Problemática del Cultivo del Amaranto. en México. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 101 - 109.

Fitter, A. and R. Hay. (1987) Environmental Physiology of plants .Second edition. Academic Press New York USA: pp. 138 - 221.

Gamboa, A. (1989) Influencia del Contenido Relativo de Agua sobre el Metabolismo Nitrogenado en *Amaranthus hypochondriacus* L. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas (Bioquímica). Facultad de Química, UNAM.

Giudeci, M., V. Amico et al (1975): Effects of light and kinetin on amaranthin synthesis induced by cAMP. *Phytochemistry* 14: 989 - 991.

Giudeci, M., V Amico & M Piatelli. (1985). Light control of amaranthin synthesis in isolated *A marnthus* cotyledons. 14 : 479 - 481.

Goodwin, T. (1976) .Chemistry and Biochemistry of Plant Pigmentes. Academic Press. Second Edition. 1: 560 - 593.

Gómez, L. (1986) Cultivo del Amaranto en México. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 23 - 55.

Granados, D. y G. López. (1986) Chinampas: Historia y Etnobotánica de la "Alegria" (*Amaranthus hypochondriacus* L) Domesticación de la Verdolaga (*P.oleareaceae* L.) y el Romerillo (*S. diffusa* W) Memoria del Colóquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 23-55.

Harbone, J.(1988) Introduction To Ecological Biochemistry. Academic Press. Thyrt edition. Great Britain. pp. 42-59.
fffff

Harper, J.(1982) After Description. The Plant Community a Working Mechanism. British Ecological Society. England. pp 11-23

Hauptly, H. (1986) Sumario de la Colección de Amaranto en América Latina desde el Punto de Vista Genético. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto . Querétaro, Qro. pp. 239-241.

Huang. A.& J. Von Elbe. (1986) Stability comparasión of to betacyanine pigmentes - Amaranthine and betanine. *Journal of Food Science* 51 (3) : 670 - 674.

Hunt, R., J Weber & D. Gates. (1985) Effects of nitrate application on *Amaranthus powellii* Wats. I. changes in photosintesis, growth rates, and leaf ares. *Plant Physiol.* 79: 614 - 618.

Jiménez, R.y S. Cordero. (1986) *Amaranthus spp* en la Alimentación Xochimilaca y su proyección en la Alimentación Básica. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 56 - 64.

- Keith, A. & T. Kinsman. (1977) The hormonal control of synthesis of betacyanins in *Amaranthus caudatus*. 16: 1137 - 1142.
- Krebs, Ch. (1985) Ecología, Estudio de la Distribución y la Abundancia. Ed. Harla Harper & Row Latinoamericana. México. pp. 132- 136.
- Larcher, W. (1977) Ecofisiología Vegetal. Ed. Omega. Barcelona España. pp. 155 - 215.
- Levitt, J. (1972) Responses of Plants to Environmental Stress. Academic Press. U.S. pp. 1-16, 322-355.
- Lawrance, G. (1968) Taxonomy of Vascular Plants. Ed. Mc. Millan. USA. pp.477-498.
- Mabry, J., A. Taylor & L. Turner. (1963a) The betacyanins and their distribution. *Phytochemistry*. 2: 61 - 64.
- Mabry, J. (1980b). Betalains. *Encyclopedia of Plant Physiology. Secondary Plant Products* 8:
- Mapes, C. (1986) Una Revisión sobre la utilización del Género Amarantho en México. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp. 65 - 76.
- Márquez, F. (1986) Generalidades sobre el Establecimiento de un Programa inmediato de Mejoramiento Genético del Amarantho. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp. 217 - 232.
- Matile, P. (1978) Biochemistry and function of vacuoles. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 193-213.
- Medina, E. (1977) Introducción a la Ecofisiología Vegetal. Organización de los Estados Americanos. Washington D.C. pp. 21 - 34.
- Morales, J., D. Granados y J. Martínez. (1986). Respuesta del Amarantho (*Amaranthus hypochondriacus* L.) a la Fertilización Química y Orgánica en condiciones de Temporal en 2 áreas del estado de Tlaxcala. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp. 152 - 174.
- Morgan, J. (1984) Osmoregulation and Water Stress in Higher Plants. *Ann. Rev. Plat Physiol.* 35: 299 - 319.
- Orea, J. y A. Trinidad. (1986) Respuesta de dos Fenotipos de *Amaranthus hypochondriacus* L. (Verde y Rojo) a diferentes dosis de N y P en la Producción de Proteína Foliar. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp. 179 - 185.
- Pianka, E. (1978) Evolutionary Ecology. Harper & Row, Publishers. Second Edition. New York, USA. pp. 12-16, 53-56.

Piattelli, M. & L. Minale. (1964a) Pigments of Centrospermae-I. Betacyanins from *Phyllocactus hybridus* Hort. and *Opuntia ficus-indica* Mill. *Phytochemistry* 3: 307 - 311.

Piattelli, M. & L. Minale. (1964b) Pigments of Centrospermae - II. Distribution of Betacyanins. *Phytochemistry*. 3: 547 - 577.

Rast, D., R. Skrivanova & R. Bachafen. (1973) Replacement of light by dibutyryl-cAMP and cAMP in Betacyanin synthesis. *Phytochemistry* 12: 2669 - 2672.

Reid, M. (1980). Effects of pH and Ethaphon on Betacyanin Leakage from Rot Discs. *Plant Physiol.* 66: 1015 - 1016.

Reyna, T. (1984): Requerimientos Climáticos para el Cultivo del Amaranto. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 81 - 89.

Río, P. del (1988) El Contenido Relativo de Agua: Características en *Amaranthus hypochondriacus* L. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.

Salisbury, B. & L. Ross. (1985) *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company. Third Edition. pp. 18 - 32., 281-287, 468 - 486.

Santacruz, H. y N. Marbán. (1986a) Asociación del *Hacobbus aberrans* a Tres Variedades de Alegria (*Amaranthus hypochondriacus* L.) Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 186 - 192.

Santacruz, H. y N. Marbán. (1986b) Estudios histopatológicos de *Hacobbus aberrans* en 3 variedades de Alegria (*Amaranthus hypochondriacus* L.) Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 204 - 216.

Santacruz, H. y N. Marbán. (1986c) Respuesta del Cultivo de Alegria (*Amaranthus hypochondriacus* L.) a Niveles iniciales de Infestación del nemátodo *Hacobbus aberrans*. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro. Qro. pp. 193 - 203.

Santos, A. (1986) Utilización del cultivo de Amaranto (*Amaranthus spp*). Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 110 - 117.

Serrat, M.A. y E. Vega. (1986) Bioensayo con Organos de *A. hypochondriacus* L. al efecto de la miel de Abeja. Memoria del Coloquio Nacional del Amaranto. Querétaro, Qro. pp. 262 - 273.

Shih, C. & J. Croker. (1981) Betacyanine and betaxanthine decolorizing. enzymes in the Beet (*Beta vulgaris* L.) Root. *Journal of Food Science.* 47: 164-166.

- Smith, T. (1985) The decolorization of betacyanin by polyamines . *Phytochemistry* 24: 2436 - 2437.
- Steuster, A. (1981) Water potential of aqueous polyethylene glycol . *Plant Physiol.* 67: 64 - 67.
- Suárez, G. (1986a) Avances de Investigación sobre Amarantho en el ITESUM-QRO. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp. 175 - 178.
- Suárez, G. (1986b) Importancia de los Estudios Morfológicos, Anatómicos y Fisiológicos del Amarantho. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Queretaro, Qro. pp. 77 - 80.
- Sumar, L. (1986) Avances en el Programa de Investigación de Amaranthus del CICA-CUSCO Perú. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro. Qro. pp. 141 - 151.
- Steuter, A. (1981) Water potential of aqueous polyethylene glycol. *Plant. Physiol* 67: 64 - 67.
- Trinidad, A. , E. Kleber y F. Vera. (1986) Utilización del Cultivo del Amarantho (*Amaranthus* spp). Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp 262-273.
- Valensuela, E. (1989) Influencia del Contenido Relativo de Agua sobre los Niveles de los Solutos Compatibles Glicina Betaina y Prolina Durante la Perdida de Agua en *Amaranthus hypochondriacus* L. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas (Bioquímica) Facultad de Química, UNAM.
- Velasco, A.y D. Heyden. (1986) El uso y la Representación del Amarantho en la Epoca prehispánica según las Fuentes Históricas y Pictográficas. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp 8 - 22.
- Von Elbe, J. S. Schwartz & B. Henbrand. (1981) Loss and regeneration of betacyanin pigments during processing of red beets. *Journal of Food Science* 46:1713-1715.
- Von Elbe, J. (1975) Stability of betalains as food colors. *Food technology.* 29:44-46.
- Waller, T. & L. Lasure. (1981) Betalains. in Beet root tissue culture. *Journal of food Science.* 47: 162-163.
- Wintermans, A. and Mots (1965) Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochim. Biophys. Acta* 109: 448 -453.
- Xolalpa, F.J. (1986). Práctica Regional del Cultivo del Amarantho, en Tulyehualco, Xochimilco, D.F.. Memoria del Coloquio Nacional del Amarantho. Querétaro, Qro. pp. 118 - 124.

APENDICE 1

La solución nutritiva usada en el desarrollo de las plantas de *A. hypochondriacus* del lote control así como en las del lote 2 (NaCl 300 mM) y 3 (PEG 4 %) durante el período de liberación del estrés, fue la siguiente:

COMPUESTO	CONCENTRACION (M)
KN03	0.005
Ca(no3)2	0.005
MgSO4	0.005
KH2PO4	0.005
	(PPM)
MnCl2 4H2O	0.500
H3BO4	0.400
ZnCl2	0.070
CuCl2 2H2 O	0.011
Na2MoO4	0.010
FeCl3 6H2O	2.40
Na4EDTA	2.61

RESUMEN.

Las betacianinas confieren un color rojo a los tejidos que las contienen. Estos alcaloides coloridos existen casi exclusivamente en el orden de las Centrospermas. Aunque no ha sido determinada su función en la planta, se ha pensado que tienen un papel como atrayentes de polinizadores y alguna función como agentes antivirales. Por otro lado se ha reportado que el estrés hídrico prolongado inhibe la producción de betacianinas.

Durante este trabajo se planteó estudiar las variaciones en la concentración de betacianinas durante cambios en el estatus hídrico (trasplante, estrés hídrico y salino y liberación de éstos) en plantas de *Amaranthus hypochondriacus* L. de dos fenotipos: rojo y verde. El objetivo a largo plazo fue describir su posible función fisiológica y ecológica.

Se encontró que ambos fenotipos: rojo y verde, llevan a cabo una activa acumulación de betacianinas después del trasplante. Para saber si ésto era un efecto del estrés hídrico se hicieron experimentos en esta dirección.

Plantulas crecidas en invernadero fueron tratadas con 300 mM de NaCl y con polietilenglicol al 4%. En ambos casos se detuvo el crecimiento y se incrementó la concentración de betacianinas. Esta concentración disminuy paulatinamente durante el crecimiento, tanto en los controles como en las plantulas tratadas. Cuando se liberaron las plantas del estrés, se produjo de nuevo un estímulo de la síntesis de betacianinas.

De lo anterior se concluye que las betacianinas se sintetizan como consecuencia de cambios en el estatus hídrico del tejido.