



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

"Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre"

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

LOS AZÚCARES Y LA INDUCCIÓN FLORAL
EN NOCHEBUENA (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

MARÍA EMILIA OROZCO GAETA

Chapingo, Estado de México, mayo de 2006.



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



LOS AZÚCARES Y LA INDUCCIÓN FLORAL EN NOCHEBUENA
(*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

Tesis realizada por **María Emilia Orozco Gaeta**, bajo la dirección del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: 
Ph. D. María Teresa Colinas León (UACH)

ASESOR: 
Dr. Ismael León Rivera (UAEM)

ASESOR: 
Ph. D. Luis Alonso Valdez Aguilar (UACH)

ASESOR: 
Dr. Edilberto Avitia García (UACH)

DEDICATORIA

A mi madre, una mujer maravillosa.

A mis hijos, mi alegría y mi razón para vivir.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Fitotecnia y al Instituto de Horticultura, por darme la oportunidad de continuar mi formación académica, y por todos los apoyos y facilidades recibidas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su apoyo financiero para la realización de este trabajo, que forma parte del proyecto # 38340-B titulado “Temperatura y nutrición en pigmentación de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)”.

A la Doctora Ma. Teresa Colinas León, por su permanente guía y aprobación, gracias también por ser tan humana y comprensiva.

Al Doctor Ismael León Rivera, y a todo el personal del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por su apoyo durante el trabajo de Cromatografía de Líquidos.

A todos los integrantes de mi Comité Asesor, porque cada uno me hizo sugerencias importantes en el área de su especialidad y experiencia.

A todos mis profesores de maestría, quienes en poco tiempo me acercaron de nuevo a la ciencia.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología, por su apoyo económico para la impresión de todos los ejemplares.

Al Q.A. Cecilio Bautista Bañuelos, y a todo el personal del Laboratorio de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia, por su apoyo durante la extracción de azúcares y el desdoblamiento de almidón.

Al T.A. Mario Venegas Peralta, y a todo el personal del Laboratorio de Histología y Citología de la Preparatoria Agrícola, por su apoyo en el trabajo de Histología.

Al M.C. Emanuel Cruz San Pedro, por su ayuda en el trabajo de invernadero y en la revisión del borrador.

Al Sr. Martín Mancilla Valencia, por permitirnos instalar los experimentos en sus invernaderos y por su ayuda en el manejo del cultivo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Pertenezco a una familia trabajadora y sencilla del sur de Zacatecas. Mi segunda casa ha sido Chapingo: aquí estudié la preparatoria, la licenciatura y la maestría; también trabajé en la Oficina de Servicios Escolares de la Preparatoria Agrícola, en la Secretaría Particular de Rectoría y como Profesor en el Departamento de Fitotecnia. He viajado y aprendido mucho: trabajé en un programa especial de BANRURAL y conviví con la gente humilde de la Huasteca Hidalguense. Esta región es una de las más pobres que he visto en mi país. Trabajé también en Monterrey, como Coordinador de Tiendas Campesinas y Coordinador de Capacitación, en Distribuidora Conasupo del Norte. El sur del Estado de Nuevo León, junto con parte del estado de San Luis Potosí, también sufre una pobreza impresionante. Haciendo un resumen, mi vida profesional ha sido de servicio a los agricultores, enseñanza y capacitación. Sobre mis planes para un futuro cercano, tengo el deseo de estudiar un Doctorado en alguna universidad de los Estados Unidos; debo trabajar mucho para lograrlo.

LOS AZÚCARES Y LA INDUCCIÓN FLORAL EN NOCHEBUENA (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

María Emilia Orozco Gaeta
(Bajo la dirección de la Dra. Ma. Teresa Colinas León)
mayo de 2006

RESUMEN

En el otoño del 2004 se llevó a cabo un experimento con nochebuena en Texcoco, México, ubicado a 19° 29' N y 98° 53' W. Considerando que para este cultivo hay poca información sobre las relaciones fuente-demanda y sobre la relación de los azúcares con la inducción a floración, se plantearon los objetivos siguientes: (1) determinar el tipo y la concentración de monosacáridos y disacáridos presentes, a lo largo del ciclo anual y en todos los órganos, en las plantas de los cultivares Supjibi y Peter Star, (2) estudiar la relación del contenido de azúcares con la iniciación floral, (3) establecer la relación del contenido de almidón con las etapas fenológicas de la planta, y (4) comparar el crecimiento y desarrollo de los cultivares estudiados. Se hicieron cortes de meristemo apical y se determinó, mediante HPLC, el contenido de azúcares solubles y el contenido de azúcares derivados de almidón. La iniciación floral de 'Supjibi' ocurrió aproximadamente a los 99 días después del trasplante (DDT), sin necesidad de fotoperiodo corto artificial. La iniciación de 'Peter Star' se dio a los 138 DDT, después de recibir veinte días cortos artificiales de 8 horas. Los monosacáridos y disacáridos encontrados fueron sacarosa, maltosa, glucosa y fructosa, los cuales han sido enunciados de mayor a menor concentración. Maltosa se encontró en hojas y brácteas, mientras que los otros azúcares se presentaron en toda la planta. La cantidad total de azúcares solubles varió entre 0.5 % y 2.1 % para 'Supjibi', y entre 1.1 % y 2.9 % para 'Peter Star', porcentajes con base en peso fresco. Durante la iniciación floral disminuyó el contenido de sacarosa en raíz y hojas maduras, la cual se destinó a las hojas jóvenes; asimismo, en la iniciación se dio un aumento en la concentración de glucosa en las hojas jóvenes. Los azúcares encontrados en las muestras, después del desdoblamiento del almidón, fueron: fucosa (6-desoxi-galactosa), fructosa, galactosa y glucosa. Se encontraron azúcares derivados de almidón en todos los órganos, y durante toda la vida de la planta; la cantidad total en cada uno de los órganos varió entre 2 % y 32 % para 'Supjibi', y entre 2 % y 39 % para 'Peter Star', porcentajes con base en peso fresco. Cuando ocurrió la iniciación floral había una baja concentración de almidón (6 % a 9 %), después de la iniciación hubo un incremento en el área foliar y en la acumulación de almidón (32 % a 39 %), y en la etapa de crecimiento de brácteas el almidón se desdobló y se utilizó en esta zona de demanda.

PALABRAS CLAVE: relaciones fuente-demanda, cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC), almidón, histología.

SUGARS AND FLOWER INITIATION IN POINSETTIA
(*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

Maria Emilia Orozco-Gaeta
(Under the direction of Ph. D. Ma. Teresa Colinas-Leon)
May, 2006

ABSTRACT

In the autumn of 2004, two poinsettia cultivars were grown in Texcoco, Mexico, located at 19° 29' N and 98° 53' W. Since there is scarce information about source-sink relationships and the relation of sugars with floral initiation for this plant, the present research pursued the following objectives: (1) to determine the kind and concentration of monosaccharides and disaccharides present in all the organs, along the plant's life, of cultivars Supjibi and Peter Star, (2) to study the relationship between the sugars present and the process of flower bud initiation, (3) to establish the relationship between starch content and the plant phenological stages, and (4) to compare the growth and development of the two studied cultivars. Permanent slides with cuttings of stem-tips were made, and soluble sugar content and sugars from starch were evaluated by HPLC. Floral initiation in 'Supjibi' took place around 99 days after transplanting, with no need for artificially shortened days. 'Peter Star' had floral induction 138 days after transplanting, after receiving twenty artificial eight-hour days. The monosaccharides and disaccharides found were sucrose, maltose, glucose and fructose, stated from highest to least concentration. Maltose was located in leaves and bracts, while the other sugars were in the whole plant. The total amount of soluble sugars ranged between 0.5 % and 2.1 % for 'Supjibi' and between 1.1 % and 2.9 % for 'Peter Star', percentages on a fresh weight basis. By the time of floral initiation, the content of sucrose in roots and mature leaves decreased, and this sucrose was translocated to young leaves; also, during this event the content of glucose increased in young leaves. Sugars found in the samples, after the starch breakdown, were fucose (6-deoxy-galactose), fructose, galactose and glucose. Sugars derived from starch were found in all organs during the whole life of the plant; the total amount found in each organ ranged between 2 % and 32 % for 'Supjibi' and between 2 % and 39 % for 'Peter Star', percentages on a fresh weight basis. During floral initiation the amount of starch was low (6 % to 9 %), after floral initiation there was an increase in foliar area and starch accumulation (32 % to 39 %), and finally, during bract growth, the starch was broken down and used in the bract sink area.

KEY WORDS: source-sink relationships, high performance liquid chromatography (HPLC), starch, histology.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Origen	4
2.2. Morfología	5
2.3. Floración	5
2.4. Fotoperíodo	6
2.5. Temperatura	8
2.6. Los azúcares en el control del desarrollo	10
2.7. Síntesis de sacarosa	20
2.8. Catabolismo de sacarosa	22
2.9. Transporte de azúcares	23
2.10. Transportadores de azúcares	25
2.11. Síntesis de almidón	25
2.12. Degradación del almidón	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. Experimento del 2004	31
3.1.1. Variables agronómicas	34
3.1.2. Muestreo para el trabajo de histología	34
3.1.3. Corte de meristemo apical	34
3.1.4. Muestreo para la cuantificación de azúcares y almidón	36
3.1.5. Extracción alcohólica de azúcares solubles	37
3.1.6. Desdoblamiento del almidón	37
3.1.7. Cuantificación de azúcares solubles y azúcares derivados de almidón	38
3.1.8. Diseño experimental y análisis de la información	43
3.2. Experimento del 2005	44
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. Variables agronómicas	46
4.2. Desarrollo fenológico	51
4.3. Fecha de iniciación floral	52
4.4. Contenido de azúcares solubles	55
4.5. Contenido de almidón	61
4.6. Relaciones almidón-azúcares y sacarosa-glucosa	66
4.7. Resultados del 2005	68
4.8. Consideraciones finales	71
V. CONCLUSIONES	74
VI. LITERATURA CITADA	76
VII. ANEXOS	79

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Variables agronómicas de dos cultivares de nochebuena	48
Cuadro 2. Peso seco (g) de los órganos de dos cultivares de nochebuena	48
Cuadro 3. Desarrollo fenológico de las plantas de dos cultivares de nochebuena en la región de Texcoco, México	51

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Trasplante de nochebuena	32
Figura 2. Plantas de nochebuena antes del inicio de coloración de brácteas	32
Figura 3. Cultivar Supjibi	32
Figura 4. Cultivar Peter Star	32
Figura 5. Foto del experimento, antes de la cosecha	33
Figura 6. Panorámica del experimento, con el cultivo comercial al fondo	33
Figura 7. Procesador automático de tejidos o histokinette	39
Figura 8. Microtomo rotatorio de Minot	39
Figura 9. Desdoblamiento de almidón	39
Figura 10. Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC)	40
Figura 11. Dosificación de la muestra para inyectar en HPLC	40
Figura 12. Inyección de la muestra en HPLC	40
Figura 13. Cromatograma de una mezcla de cuatro azúcares químicamente puros	42
Figura 14. Cromatograma de una muestra	42
Figura 15. Altura de plantas de nochebuena en Texcoco, México	49
Figura 16. Peso seco de plantas de nochebuena en Texcoco, México	49
Figura 17. Área foliar de hojas más brácteas de plantas de nochebuena en Texcoco, México	50
Figura 18. Área foliar de brácteas de plantas de nochebuena en Texcoco, México	50

Figura 19. Crecimiento y desarrollo de las plantas de 'Supjibi' y 'Peter Star'	52
Figura 20. Corte longitudinal del meristemo apical de nochebuena	54
Figura 21. Total de azúcares solubles en dos cultivares de nochebuena en Texcoco, México	56
Figura 22. Azúcares solubles en la raíz del cultivar Supjibi de nochebuena	56
Figura 23. Azúcares solubles en la raíz del cultivar Peter Star de nochebuena	57
Figura 24. Contenido de sacarosa en los órganos del cultivar Peter Star de nochebuena	57
Figura 25. Azúcares solubles en las hojas maduras del cultivar Peter Star de nochebuena	59
Figura 26. Azúcares solubles en las hojas jóvenes del cultivar Peter Star de nochebuena	59
Figura 27. Contenido de sacarosa en los órganos de dos cultivares de nochebuena en el momento de la iniciación floral	60
Figura 28. Contenido de glucosa en los órganos de dos cultivares de nochebuena en el momento de la iniciación floral	60
Figura 29. Contenido de azúcares derivados de almidón en dos cultivares de nochebuena	62
Figura 30. Contenido de azúcares derivados de almidón en los órganos del cultivar Supjibi de nochebuena	63
Figura 31. Contenido de azúcares derivados de almidón en los órganos del cultivar Peter Star de nochebuena	64
Figura 32. Contenido de maltosa en los órganos del cultivar Peter Star de nochebuena	64
Figura 33. Contenido de azúcares derivados de almidón en los órganos de dos cultivares de nochebuena en el momento de la iniciación floral	65
Figura 34. Contenido de almidón y maltosa en las hojas del cultivar Supjibi de nochebuena	67
Figura 35. Contenido de almidón y glucosa en las hojas del cultivar Supjibi de nochebuena	67

Figura 36. Contenido de sacarosa y glucosa en las hojas del cultivar Peter Star de nochebuena	68
Figura 37. Cultivar Supjibi, fecha de trasplante 24 de junio de 2005	69
Figura 38. Cultivar Supjibi, fecha de trasplante 15 de julio de 2005	69
Figura 39. Cultivar Supjibi, fecha de trasplante 1 de agosto de 2005	69

I. INTRODUCCIÓN

La producción de nochebuena en México ha tenido un aumento impresionante en los últimos años. Para el 2002 la SAGARPA reporta una cosecha de 954, 000 plantas a nivel nacional (SAGARPA, 2004), mientras que para el año 2005 Espinosa-Flores (comunicación personal) estima que se produjeron más de veinte millones de plantas en macetas de 4 pulgadas o mayores. Para este cultivo no hay muchos datos estadísticos, pero aunque estas cifras sean aproximadas, nos dan idea del crecimiento en la producción.

Los principales estados productores son Morelos, Distrito Federal, Michoacán, México, Puebla, Jalisco, Veracruz y Guanajuato, mencionados en orden de importancia; los mercados más importantes de flores, entre ellas la nochebuena, son Distrito Federal, Estado de México, Guadalajara, Puebla, Monterrey, Cuernavaca, Cuautla, Morelia, Veracruz y Xalapa (Espinosa-Flores, comunicación personal).

Las flores en general, y la nochebuena en particular, tienen un potencial de mercado muy grande en México. Actualmente se consumen flores sólo en las ciudades más grandes o en las pequeñas ciudades cercanas a las zonas productoras. Hay muchos lugares donde podría comercializarse la nochebuena: las ciudades del norte del país, del Pacífico, de la Península de Yucatán y algunas ciudades del centro-norte como Durango, Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, etc.

Después de analizar la importancia del cultivo, y su potencial de mercado, se debe considerar la necesidad de realizar estudios que brinden información a técnicos y productores para mejorar el manejo del cultivo. En este caso se optó por un estudio de tipo fisiológico, porque conociendo la fisiología y las respuestas de la planta a los

factores ambientales se pueden cambiar las fechas de trasplante y de cosecha, de acuerdo con las necesidades del mercado; se pueden ubicar las etapas críticas donde hay que cuidar de manera especial la nutrición y la sanidad del cultivo, manejar adecuadamente el fotoperíodo y la temperatura, dar las prácticas culturales apropiadas, y en general se puede proporcionar un mejor manejo al cultivo.

La inducción a floración en las plantas es motivada por factores endógenos, como la madurez y los ritmos circadianos, y por factores ambientales como la duración del día y la temperatura. En particular, la nochebuena es una planta de fotoperíodo corto obligado, con una fuerte influencia de la temperatura para la floración. La señal es un conjunto de sustancias bioquímicas que se elaboran en las hojas y se trasladan al meristemo apical, en donde ocurren los cambios bioquímicos, citológicos e histológicos que conducen a la iniciación floral. Hasta el momento se sabe que la señal para la iniciación está constituida por hormonas y azúcares (Lalonde *et al.*, 1999, Rolland, *et al.*, 2002, y Sung *et al.*, 2003); sin embargo, ha sido difícil determinar el tipo de hormonas y el tipo de azúcares debido a que estos compuestos y sus proporciones son específicos para cada especie. Las señales son percibidas y transmitidas al núcleo para ocasionar cambios en la expresión de los genes que conducen al desarrollo floral. Es importante entonces, contribuir para la comprensión de los estímulos que motivan la iniciación floral, y conocer cómo se movilizan las reservas energéticas de la planta. En esta especie no hay información sobre las relaciones fuente-demanda, y tampoco sobre la relación de los azúcares con la iniciación floral, por ello se plantearon los objetivos siguientes:

1.1. OBJETIVOS

- Determinar el tipo y la concentración de monosacáridos y disacáridos presentes, a lo largo del ciclo anual y en todos los órganos, en las plantas de los cultivares Supjibi y Peter Star.
- Estudiar la relación del contenido de azúcares con la iniciación floral.
- Establecer la relación del contenido de almidón con las etapas fenológicas de la planta.
- Comparar el crecimiento y desarrollo de los cultivares estudiados.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ORIGEN

La nochebuena es una planta originaria de México. Era cultivada por los aztecas antes de la llegada de los españoles y la llamaban “cuetlaxochitl”. Se reporta como nativa del área de Taxco, Guerrero. Por sus colores brillantes la flor era un símbolo de pureza. Los indígenas le daban un uso ornamental y un uso práctico: con las brácteas hacían una pintura entre rojo y morado, y con el látex hacían un medicamento para bajar la fiebre (Ecke, Jr. *et al.*, 1990).

Durante el siglo XVII un grupo de monjes Franciscanos se establecieron cerca de Taxco y empezaron a usar la nochebuena para las fiestas del Santo Pesebre, una procesión navideña. Esta costumbre fue descrita por Don Hernando Ruiz de Alarcón en una carta a su hermano. Un Botánico del mismo periodo, Juan Balme, describe a la nochebuena como una planta de hojas grandes y verdes, con flores pequeñas rodeadas de brácteas para su protección. Balme también encontró la planta floreciendo en las laderas y en los valles cercanos a Cuernavaca, Morelos (Ecke, Jr. *et al.*, 1990).

La nochebuena fue llevada a los Estados Unidos en 1825 por Joel Robert Poinsett, primer Embajador de ese país en México. El visionario Botánico Poinsett envió algunas plantas a su casa en Greenville, Carolina del Sur. Después de proveer sus invernaderos distribuyó plantas entre algunos jardines botánicos y algunos amigos horticultores. El trabajo de mejoramiento genético mediante selección se inició alrededor de 1923, por los floricultores de los Estados Unidos. A mediados de la década de los cincuenta se iniciaron programas formales de mejoramiento genético en varias Universidades, Centros de Investigación y Firmas Comerciales de los Estados Unidos. A inicio

de los años sesenta los productores Europeos mostraron gran interés por la nochebuena, y se inició su cultivo en Noruega, Dinamarca, Alemania y Francia (Ecke, Jr. *et al.*, 1990).

2.2. MORFOLOGÍA

La nochebuena es un popular arbusto que florece en el invierno, de 60 cm a 3 m de altura ó más; se cultiva en invernadero o en el jardín (Bailey, 1977). Las hojas son de color verde, ovalado-elípticas a lanceoladas, enteras o lobuladas (dependiendo del cultivar y de la madurez de la planta), de 10 a 17 cm de largo, con una filotaxia alterna a casi opuesta y con pecíolos de hasta 10 cm (Grueber, 1985). Las hojas superiores son más angostas, la mayoría enteras y de color rojo brillante (Bailey, 1977). Al conjunto de inflorescencias se le llama ciatia, tiene un arreglo en cimas, y cada ciatia se compone de uno a tres o más ciatios. Los ciatios tienen la apariencia de una copa, cada uno contiene una flor pistilada y pedicelada, y entre 15 y 17 flores estaminadas (Grueber, 1985). Las flores son apétalas (Bailey, 1977) y cada flor masculina tiene asociada una bractéola no desarrollada (Grueber, 1985). La flor femenina sale del involucre por alargamiento del pedicelo, ésta consiste de un ovario de tres lóculos con un óvulo en cada uno de ellos, el estilo es trifurcado y el fruto es una cápsula tricarpetal ((Bailey, 1977). El involucre tiene un nectario funcional y cuatro no funcionales (Venkata, 1971). Hay formas en las cuales las hojas florales son blancas o rosas (Bailey, 1977).

2.3. FLORACIÓN

Pocos procesos del desarrollo de las plantas son tan críticos para la horticultura como la floración. Este proceso es esencial para la producción de la mayoría de frutos

comestibles y para la belleza de nuestros jardines y nuestros cultivos florícolas. A pesar de este papel tan importante, las bases fisiológicas de la inducción floral y de la morfogénesis han permanecido como un misterio, aún cuando ha mejorado nuestra habilidad para manipular el momento de floración en muchas especies. Hace muchos años se propuso al florígeno como la hormona vegetal que induce la floración; se ha acumulado una gran cantidad de evidencias sobre su existencia, pero esta hormona no ha sido aislada y confirmada (Archbold, 2003). El florígeno se ha definido también como un conjunto de sustancias bioquímicas que se producen en las hojas y se transportan al meristemo apical para que ocurra la floración. Estas sustancias pueden ser diferentes, dependiendo del tipo de planta (Taiz y Zeiger, 1998).

La floración es controlada por numerosos factores endógenos y ambientales. Los factores ambientales incluyen duración del día, temperatura y condiciones de estrés; mientras que los factores endógenos incluyen edad, ritmo circadiano, hormonas, contenido de azúcares, etc. Estos factores o señales son percibidos y transmitidos al núcleo para ocasionar cambios en la expresión de los genes que conducen al desarrollo floral (Sung *et al.*, 2003).

2.4. FOTOPERÍODO

La iniciación floral y el desarrollo en *E. pulcherrima* está regulado principalmente por el fotoperíodo, con una fuerte interacción de la temperatura; la nochebuena es clasificada como una planta cualitativa de día corto (Grueber, 1985). La respuesta obligada o cualitativa a una señal ambiental es la necesidad indiscutible de tener esa señal para poder florecer (Taiz y Zeiger, 1998). La presencia de días cortos induce y propicia el desarrollo de las flores verdaderas. Los días cortos pueden ocurrir con el aumento

natural de la noche como sucede en el otoño en el hemisferio norte, o con el logro de días cortos de manera artificial cubriendo las plantas con tela negra o materiales similares. La nochebuena es cultivada no por sus flores, sino por sus brácteas coloreadas; sin embargo, para que se generen las brácteas se requiere que ocurra antes la iniciación y desarrollo de las partes florales (Grueber, 1985).

Grueber (1985) reporta varios experimentos de los cuales se desprende que el periodo natural de luz es de 12.5 horas para la iniciación; sin embargo, hay una respuesta distinta dependiendo del cultivar.

La duración crítica del día es menor para el desarrollo floral que para la iniciación floral. Cuando se tienen plantas con 8 ó 10 horas de luz se acelera la iniciación y el desarrollo floral; con 12 horas de luz puede haber iniciación, pero el desarrollo floral es muy lento o puede ser inhibido (Grueber, 1985).

Struckmeyer y Beck (1960) trabajaron con el cultivar Ruth Ecke y concluyeron que la inducción floral depende en gran medida del número de días cortos que la planta recibe. La primera evidencia microscópica de iniciación floral en el meristemo apical apareció después de que las plantas recibieron 15 días cortos. Después de que la planta recibió 25 días cortos la diferenciación del ciatio primario progresó rápidamente. La diferenciación de primordios del involucro y de los estambres se dio a los 25 días cortos para el ciatio primario, a los 30, 45 y 60 para los ciatios secundario, terciario y de cuarto orden, respectivamente. Se deben mantener los días cortos de manera continua para que haya la aparición constante de ciatios.

El patrón de diferenciación y desarrollo floral en nochebuena reportado por Struckmeyer y Beck (1960) es el siguiente: en el meristemo apical se diferencia primero el ciatio primario o ciatio de primer orden. De las axilas de las últimas tres hojas

formadas se diferencian tres ramas (ramas de primer orden). Cada rama de primer orden diferencia un ciatio y su bráctea (ciatios de segundo orden). Los tres ciatios desarrollan dos ramas dicotómicas cada uno (ramas de segundo orden). De cada rama de segundo orden se diferencia un ciatio y una bráctea (ciatio de tercer orden). De cada uno de estos ciatios se diferencian dos ramas cortas (ramas de tercer orden). De cada rama de tercer orden se forma un ciatio y una bráctea (ciatios de cuarto orden). Generalmente se forman seis ciatios adicionales procedentes de parte de los ciatios de cuarto orden. Estos ciatios permanecen pequeños y no llegan a antesis. Se diferencia también una bráctea junto con estos ciatios poco desarrollados; por lo tanto, una “flor típica” de nochebuena consiste de 22 ciatios y aproximadamente 27 brácteas (el término “flor” se aplica al conjunto de ciatios y brácteas, las cuales son en realidad hojas modificadas).

Struckmeyer y Beck (1960) controlaron el fotoperíodo y lograron la inducción de ramas vegetativas después del ciatio primario. Le dieron ocho días cortos a las plantas y después las sometieron a días largos, con esta cantidad de días cortos se logró la inducción del ciatio primario. Las yemas axilares de las tres hojas permanecieron vegetativas en lugar de desarrollar ciatios de segundo orden. Con este tipo de tratamiento plantas de un solo tallo produjeron tres brotes vegetativos que continuaron su crecimiento durante los días largos. Cuando se regresó a los días cortos cada yema se diferenció para producir un ciatio.

2.5. TEMPERATURA

La temperatura controla la velocidad de crecimiento y desarrollo, pero también modifica la longitud del día crítica para la inducción floral. Esta longitud del día disminuye a medida que la temperatura del día se incrementa o la temperatura de la noche disminuye.

Así, por ejemplo: plantas cultivadas a temperaturas constantes de 18 a 20 °C iniciaron ciatios con 12.5 horas de luz, mientras que plantas cultivadas con temperaturas diurna de 24 °C y nocturna de 15 °C iniciaron ciatios con 11 horas de luz (Grueber, 1985).

Las temperaturas que perciben los brotes son más importantes en el proceso de inducción floral que las temperaturas que perciben las raíces. Algunos experimentos mostraron que aún cuando había condiciones de día largo favorables para crecimiento vegetativo, una breve exposición de los brotes a bajas temperaturas (16 °C) estimularon la iniciación floral (Grueber, 1985).

Grueber (1985) reporta que las temperaturas nocturnas extremas, por ejemplo 10 °C ó 27 °C ocasionan retraso en la fecha de antesis, en comparación con 16 °C ó 21 °C.

Debido a la sensibilidad de la nochebuena a las temperaturas, la diferencia entre la temperatura diurna y la temperatura nocturna ha sido utilizada con fines prácticos para lograr la reducción de la altura de planta y manejar la arquitectura de la misma (Bailey y Miller, 1991).

La morfología de la planta para la venta en maceta es tan importante que durante muchos años los productores han utilizado retardantes del crecimiento; sin embargo, la utilización de sustancias químicas tiene varias desventajas, entre las que destacan el costo y el aumento en la defoliación de la planta en los 30 días posteriores a la antesis (Bailey y Miller, 1991).

Recientemente se han hecho muchas investigaciones para determinar el efecto de la temperatura en la regulación del crecimiento. En varias plantas ornamentales la diferencia de temperaturas entre el día y la noche (DIF) influye en la longitud de entrenudos, altura de planta, orientación del brote y de la hoja, contenido de clorofila, ramificación lateral y crecimiento de pecíolos y tallos florales (Myster y Moe, 1995).

En particular, para la nochebuena se ha señalado que cuando la DIF es negativa; es decir, cuando la temperatura diurna es menor que la temperatura nocturna, los entrenudos son más cortos y la planta es más baja. En cambio, si la diferencia de temperaturas es positiva; es decir, la temperatura diurna es mayor que la temperatura nocturna, hay un mayor alargamiento del tallo. Por ello, para lograr plantas compactas se recomienda una DIF negativa. También se ha encontrado que se logran plantas compactas cuando se aplica una disminución de la temperatura durante las dos últimas horas de la noche o las dos primeras horas de la mañana (Bailey y Miller, 1991).

2.6. LOS AZÚCARES EN EL CONTROL DEL DESARROLLO

Además de su papel esencial como sustratos en el metabolismo del carbono y de la energía, así como en la biosíntesis de polímeros, los azúcares tienen funciones importantes de tipo hormonal como mensajeros primarios en la transducción de señales (Rolland *et al.*, 2002).

Experimentos bioquímicos, moleculares y genéticos han apoyado el papel central de los azúcares en el control del metabolismo, crecimiento y desarrollo de las plantas, y han revelado interacciones que integran luz, respuesta a factores de estrés y señalización hormonal, así como la participación de los azúcares en la coordinación del metabolismo del carbono y del nitrógeno ((Rolland *et al.*, 2002).

La división celular y la diferenciación se deben a cambios en la actividad metabólica y a sofisticados interruptores del desarrollo. En embriones de *Vicia faba* se ha reportado que los gradientes de azúcares se correlacionan con la actividad mitótica. Del mismo modo, la expresión del gen ciclina tipo D en *Arabidopsis* es regulado por azúcares. Por lo tanto, los azúcares pueden también actuar como morfógenos, dando información

posicional a la maquinaria del ciclo celular y proporcionando diferentes programas de desarrollo. En jitomate, al utilizar porciones de meristemo destinadas a formar hojas, se concluyó que los carbohidratos tienen un metabolismo regulador, y se sugirió la participación de este metabolismo en la organogénesis (Rolland *et al.*, 2002).

La actividad señalizadora de los azúcares participa en el control del crecimiento y del desarrollo durante todo el ciclo de vida de la planta. Durante la germinación y el desarrollo temprano los azúcares controlan la movilización de los nutrimentos, el alargamiento del hipocótilo, la expansión y coloración verde de los cotiledones, y el desarrollo del brote (Rolland *et al.*, 2002).

En *Arabidopsis* se han obtenido fenotipos mutantes en la señalización de los azúcares, se han logrado mutantes insensibles y mutantes muy sensibles a los azúcares. En esta planta un alto nivel de glucosa bloquea el interruptor para el desarrollo posterior a germinación. Basados en esta respuesta se han aislado fenotipos insensibles a la glucosa (gin) como gin1, gin2, gin3, gin4, gin5 y gin6. También se han aislado fenotipos muy sensibles a la glucosa (glo) (Rolland *et al.*, 2002).

Las hexosas son potentes señales que la planta detecta, sin embargo las rutas mediadas por trehalosa y sacarosa también juegan un papel importante en la regulación del desarrollo y la expresión de los genes. Se ha sugerido que en plántulas la sacarosa regula la diferenciación y el almacenamiento, mientras que las hexosas controlan el crecimiento y el metabolismo (Rolland *et al.*, 2002).

Estudios fisiológicos y moleculares muestran que el transporte de sacarosa está altamente regulado a varios niveles de organización biológica y en respuesta a las cambiantes concentraciones de sacarosa. En este sentido, es muy importante la percepción de la señal de la sacarosa para la regulación del transporte de la misma.

Por analogía con lo que ocurre en levaduras, en las cuales algunos miembros de la familia de transportadores sirven también como sensores de azúcares, se propone que algunos transportadores en plantas juegan un papel directo en la transducción de señales y son responsables de regular el transporte de los azúcares y el metabolismo en general. Por otra parte, las proteínas sensoras pudieron evolucionar de los transportadores, esto pudo haber ocurrido con la adición en el transportador de un dominio para señalización (Lalonde *et al.*, 1999).

En cuanto a los mecanismos de percepción de los azúcares se propone un modelo de percepción de metabolitos que incluye receptores en la membrana y receptores internos. Se explica que las moléculas receptoras de la membrana perciben las concentraciones externas de azúcares y desencadenan una cascada de señales regulando la biogénesis de transportadores y la inserción o degradación de proteínas en la membrana plasmática. Cuando hay bajas concentraciones de azúcares se activa un sensor que induce genes para transportadores, y al haber más proteínas transportadoras hay una mejor absorción de los azúcares. Por otro lado, con altas concentraciones internas de azúcares el sensor intracelular puede reprimir la transcripción para transportadores, o promover su inactivación vía endocitosis y degradación, reduciendo así la entrada de azúcares (Lalonde *et al.*, 1999).

Para activar rutas de transducción de señales el azúcar debe, en primer lugar, ser detectado. En levaduras se han encontrado moléculas protéicas sensoras de glucosa (proteína G, Snf3, Rgt2 y hexokinasa 2), y se ha propuesto que moléculas similares podrían funcionar en mamíferos y plantas. En plantas se ha encontrado evidencia de que la enzima hexokinasa funciona como una molécula sensora de azúcares (Rolland *et al.*, 2002).

Uno de los mecanismos más comunes en la transducción de señales es la fosforilación y defosforilación de las proteínas, y el uso de inhibidores específicos ha indicado la participación de varias **kinasas** y varias fosfatasas en la señalización por azúcares. Por ejemplo la **kinasa Snf1** es una proteína de la levadura que está bien caracterizada como uno de los componentes más importantes en la señalización por azúcares y es requerida para liberar gran cantidad de genes antes reprimidos por la glucosa. Un segundo ejemplo son las proteínas de plantas **SnRKs** (related protein kinases), algunas de las cuales son activadas por azúcares y participan en la expresión de los genes debida a los mismos. En *Arabidopsis*, trigo, maíz y arroz varias proteínas **SnRKs** son reguladas de manera diferencial por luz, temperatura, citocininas, etapa de desarrollo y azúcares. Las proteínas **SnRKs** en plantas juegan un importante papel en el metabolismo del carbono porque fosforilan e inactivan las enzimas 3-hidroxi-3-metil glutaril CoA reductasa, la **nitrato reductasa** y la sacarosa fosfato sintasa. También el Ca^{2+} tiene un papel en la señalización por los azúcares; se ha sugerido que los azúcares disminuyen la polarización de la membrana y permiten incrementos de calcio libre en el citosol. En camote se ha encontrado evidencia de que el calcio participa en la inducción que realizan los azúcares para que se expresen varios genes, entre ellos el de β -amilasa, y en vid se ha encontrado que el Ca participa con los azúcares para inducir la biosíntesis de antocianinas. En resumen, al estudiar la señalización por azúcares, se ha reportado la participación de proteínas fosfatasas como PP1; proteínas **kinasas** como **SnRKs**, proteína **kinasa dependiente del calcio**, proteína **kinasa activada por mitogen**; y se ha estudiado el Ca^{2+} como mensajero secundario (Rolland *et al.*, 2002).

En el caso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* los transportadores del tipo de las hexoquinas regulan la absorción de glucosa. La hexoquina HXK2 funciona en la señalización de azúcares del citosol, dando como resultado la regulación de la transcripción para enzimas y transportadores necesarios en la utilización de azúcares. Las proteínas de membrana Snf3 (sucrose nonfermenting 3) y Rgt2 (restores glucose transport) perciben la concentración externa de glucosa. Estos receptores son homólogos a los transportadores tipo hexoquina, pero contienen una extensión terminal que funciona en la señalización. La ruta de señalización de Snf3 y Rgt2 afecta la regulación de la transcripción de los genes para transportadores de hexosas (Lalonde *et al.*, 1999).

Hay dos posibilidades para que las proteínas sensoras detecten las moléculas señal: primero, los sensores pueden actuar como receptores y la molécula señal se une a ellos, por ejemplo la glucosa, y transmiten la señal vía otras proteínas. Segundo, los sensores se pueden comportar como enzimas o transportadores y atravesar por cambios estructurales para verificar directamente la presencia o ausencia del compuesto señal (Lalonde *et al.*, 1999).

En *S. cerevisiae* varios sistemas de transporte para glucosa funcionan en respuesta a las concentraciones externas de la misma. Por ejemplo, HXT2 y HXT7 son transportadores de alta afinidad para glucosa y son inducidos por bajos niveles, mientras que HXT1 es un transportador de baja afinidad y es inducido por altas concentraciones de glucosa. Al parecer el sensor Snf3 detecta bajos niveles de glucosa y regula principalmente la expresión de transportadores con alta afinidad a la glucosa como HXT2 y HXT7; mientras que Rgt2 es un sensor de altos niveles de glucosa y regula la expresión de transportadores de baja afinidad como HXT1 (Lalonde *et al.*, 1999).

Los sensores de glucosa en levaduras tienen un extremo C-terminal que se requiere para la transmisión de la señal, y un dominio en la membrana necesario para reconocer la glucosa. Los transportadores de glucosa HXT1 y HXT2 pueden transformarse en sensores de glucosa cuando se unen con el extremo C-terminal de la proteína Snf3, debido a lo cual se puede pensar que los transportadores sufren un cambio de conformación durante el transporte de la glucosa y se convierten en moléculas sensoras de la misma (Lalonde *et al.*, 1999).

A diferencia de la absorción de glucosa, la regulación de la concentración de la misma en el interior de la célula debe ser controlada por señales intracelulares. Inclusive la expresión de genes para la utilización de fuentes alternativas de carbono como sacarosa o galactosa, y genes involucrados en la gluconeogénesis, debe ser reprimida cuando hay cantidades suficientes de glucosa, la forma preferida de carbono. Esto se hace a través de un mecanismo conocido como represión de glucosa catabolito o represión de carbono catabolito (Lalonde *et al.*, 1999).

En Solanáceas se ha propuesto que hay una proteína sensora de sacarosa que regula a los transportadores SUT1 directamente o a través de un mecanismo indirecto de señales como la fosforilación (Lalonde *et al.*, 1999).

Desde el enfoque de los estudios fenotípicos, genéticos y moleculares, al estudiar los mutantes insensibles a glucosa, el resultado más sorprendente ha sido el reporte de amplias y directas interacciones entre los azúcares y las hormonas. Por ejemplo, las rutas de señales de la glucosa y del etileno se han reportado como antagónicas, glucosa controla el gen ABA2 que codifica para una cadena corta deshidrogenasa-reductasa

que está implicada en la biosíntesis del ABA (ácido abscísico); es decir, la glucosa activa la biosíntesis del ABA, y tanto la glucosa como el ABA antagonizan con el etileno (Rolland *et al.*, 2002).

Al estudiar los azúcares como señalizadores en plantas el enfoque de la investigación ha sido la expresión de los genes. Una gran variedad de genes son regulados por azúcares al nivel de la transcriptasa, incluyendo genes relacionados con fotosíntesis, metabolismo del carbono y del nitrógeno, respuesta a estrés y metabolismo secundario en diferentes especies de plantas. Los azúcares pueden reprimir la expresión de un gen afectando la estabilidad del ARN mensajero, a través de regiones que no se transcriben; esto se ha estudiado en arroz, maíz y *Arabidopsis* (Rolland *et al.*, 2002).

Una gran cantidad de genes es regulada por sacarosa y monosacáridos. La regulación de los procesos mediante los azúcares proporciona a la planta mecanismos muy valiosos para ajustarse a las condiciones ambientales y para controlar procesos fisiológicos y del desarrollo, como fotosíntesis y floración. Los genes que responden a los carbohidratos inician respuestas de “banquete o hambruna”. Los genes para fotosíntesis y movilización de recursos son inducidos por la baja en carbohidratos (respuesta a la hambruna), mientras que al aumentar las concentraciones de azúcares se estimula la expresión de los genes para utilización y almacenamiento (respuesta al banquete). Esto ocurre tanto en las células de la fuente como en los tejidos de la demanda (Lalonde *et al.*, 1999; Rolland *et al.*, 2002).

La sacarosa regula los genes relacionados con el transporte, también puede reprimir los genes para la proteína de la clorofila A y B (CAB), puede reprimir los genes de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RUBISCO), y puede reprimir los genes para plastocianina. En particular la represión del gen de la RUBISCO y la inducción

del gen para la invertasa requieren de la acción conjunta de las kinasas y las fosfatasa. También la expresión del gen para la sacarosa sintasa es regulada por azúcares (Lalonde *et al.*, 1999).

El papel señalizador de los azúcares también está implicado en la regulación de la senescencia de la hoja. Se sabe que los azúcares reprimen la expresión de los genes fotosintéticos, y en plantas transgénicas, la expresión de la hexokinasa se correlaciona con la tasa de senescencia de la hoja. Es interesante que la expresión de la fosfolipasa D, la cual es importante para la senescencia de la hoja, sea inducida por la glucosa. En algunos estudios el contenido de glucosa y fructosa se incrementó con la edad de la hoja, mientras que el contenido de almidón disminuyó (Rolland *et al.*, 2002).

La glucosa y la sacarosa parecen controlar diferentes rutas de señalización. La glucosa favorece la división celular, mientras que la sacarosa controla el almacenamiento de compuestos en las semillas. La sacarosa puede ser metabolizada y las hexosas entran a la ruta dependiente de la hexokinasa. También la manosa y la 2-desoxiglucosa sirven como sustratos para la hexokinasa y pueden reprimir genes fotosintéticos vía la ruta dependiente de la hexokinasa. Las hexokinasas tienen un papel importante en la señalización, al parecer las proteínas sensoras perciben el flujo de azúcares sufriendo fosforilación, y no sólo la concentración interna de azúcares fosfato (Lalonde *et al.*, 1999).

Hay algunos resultados que sugieren que los azúcares, la luz, las hormonas y las señales de defensa pueden converger en el control transcripcional de las cajas W y G de diversos promotores. La caja W es una secuencia que se encuentra en promotores del gen α -AMY2 de trigo, cebada y avena silvestre, y que tiene que ver con la síntesis

de amilasa. En *Arabidopsis* la caja W está en muchos genes, posiblemente relacionados con la defensa de la planta. La caja G es una secuencia que participa en el control transcripcional de varios genes, como genes activados por el fitocromo (Rolland *et al.*, 2002).

Los efectos de los azúcares en la transición a floración se han estudiado con más detalle recientemente y parecen ser muy complejos. En *Arabidopsis* se requiere el incremento en la exportación de las hojas y la movilización del almidón para que haya floración, lo cual sugiere que los carbohidratos del floema tienen una función crítica en la transición a floración (Rolland *et al.*, 2002).

En *Arabidopsis* el cambio de destino del meristemo apical de vegetativo a reproductivo depende de la actividad de genes de identidad meristemática como LEAFY (LFY) y APETALA 1 (AP1). Cuando se tienen primordios foliares se expresa sólo el gen LFY, pero cuando emerge el primordio floral se expresan los dos genes. El nivel de expresión del gen LFY en los primordios se incrementa con la edad de la planta hasta que alcanza cierto nivel, una vez alcanzado este nivel el primordio que antes desarrollaba hojas ahora desarrolla un tallo floral y una flor. Se realizaron una serie de trabajos con *Arabidopsis* y se sugiere que los azúcares afectan la transición a floración porque activan o inhiben genes que intervienen para promover esos cambios. Los efectos difieren dependiendo de la concentración, del genotipo de las plantas y de la etapa de crecimiento vegetativo en que se proporcionan los azúcares. Se aplicaron tratamientos de 1 %, 2 % y 5 % de sacarosa en un medio de cultivo *in vitro*, se dejaron las plantas en ese medio durante 2 a 3 semanas y después se plantaron en suelo. Para conocer el momento de la floración se contó el número de hojas en roseta y se registró cuando el tallo con la inflorescencia principal tenía 1 cm de longitud. La sacarosa al 1% promovió

la floración en plantas mutantes de floración tardía; sin embargo, en mutantes de floración temprana y en el genotipo silvestre retrasó la floración. Por su parte, la sacarosa al 5 % retrasó la floración en todos los genotipos. La inhibición de la floración fue efectiva durante la fase vegetativa adulta y los autores comprobaron que se debió a la acción metabólica de la sacarosa, no a los efectos osmóticos. Los autores indican que *Sinapsis alba* tiene un comportamiento diferente: la concentración de la sacarosa que llega al meristemo apical se incrementa rápidamente después de un día largo, y este pulso de sacarosa precede al incremento en la división celular que se observa en el meristemo durante la evocación o inducción floral (Otho *et al.*, 2001).

Durdan *et al.* (2000) señalan que un meristemo apical es floralmente determinado si se remueve de una planta inducida, se cultiva en condiciones no inductivas, y en esas condiciones florece. Los autores analizaron la planta de día corto *Pharbitis nil*, y conocieron que los verticilos florales no se determinan al mismo tiempo, a menos que haya glucosa. Después de proporcionar a la planta un tratamiento inductivo de 48 horas de oscuridad removieron y cultivaron ápices *in vitro* en condiciones no inductivas, iluminaron el medio durante cuatro semanas, observaron con microscopio electrónico y registraron el número de órganos florales formados. El medio de cultivo tuvo como complemento sacarosa (SAC), glucosa (GLU), fructosa (FRU), una mezcla glucosa-fructosa (GLU-FRU) y una mezcla azúcares-manitol, todos en diferentes concentraciones. Los tres verticilos externos, es decir sépalos, pétalos y estambres, quedaron determinados en un día, independientemente del azúcar presente; sin embargo, el verticilo de los carpelos quedó determinado en 1 día con GLU, en 2 a 3 días con FRU o GLU-FRU, y en 5 días con SAC. Cuando se dice 1 día significa que los ápices se dejaron un día en la planta después del tratamiento inductivo y luego se desprendieron

y se pusieron en el medio de cultivo *in vitro*. Cuando se dice cinco días significa que los ápices debieron permanecer cinco días en la planta después de la inducción. Los autores señalan que el estímulo floral inicia su movimiento de los cotiledones al ápice a las 16 horas de oscuridad, pero cuando se tienen 48 horas se logra un 100 % de floración. Los autores hablan de un tiempo aproximado de 56 horas para que ocurra la determinación de los tres verticilos externos (16-48 horas de oscuridad, más 24 horas). En este trabajo ellos observaron que la SAC y la GLU causan diferentes efectos en el desarrollo de *P. nil*: La SAC es el transporte principal del carbono asimilado, y este carbono es utilizado solamente si ocurre el rompimiento de la molécula por las enzimas sacarosa sintasa o invertasa; en el meristemo apical de esta planta la actividad de la invertasa debe ser la más importante porque la GLU es quien causó una rápida aparición de los carpelos en meristemas de 1 día, y la invertasa libera GLU, mientras que la sacarosa sintasa rompe la SAC sólo en presencia de UDP (uridin difosfato) para formar FRU y UDP-GLU. Como conclusión los autores mencionan que la expresión de los genes es regulada por los carbohidratos, en este caso la GLU propicia una rápida expresión de genes homeóticos que regulan la morfogénesis del gineceo.

2.7. SÍNTESIS DE SACAROSA

El almidón y la sacarosa son los principales productos terminales de la fijación fotosintética del CO₂. El carbono fijado durante la fotosíntesis es retenido en el cloroplasto y transformado en almidón, o bien es transferido al citosol en la forma de triosa fosfato a través de una operación donde interviene el transportador fosfato, y es convertido en sacarosa. La sacarosa, que es la principal forma de transporte de carbono reducido en las plantas superiores, después de producirse en el citosol puede

almacenarse en la vacuola o puede transportarse hacia otras partes de la planta. En los tejidos de demanda esta sacarosa es retenida como tal, es metabolizada para proveer energía para el crecimiento y para mantener las actividades celulares, o es transformada en los tejidos de reserva en almidón o grasas (Singh y Malohtra, 2000).

La ruta de biosíntesis de sacarosa en plantas superiores está bien documentada. La sacarosa se sintetiza a partir de triosas fosfato procedentes del cloroplasto vía el transportador fosfato. La enzima aldolasa cataliza la condensación aldol de la dihidroxiacetona fosfato y el gliceraldehído fosfato para formar fructosa 1,6-bifosfato, la cual es hidrolizada por la enzima fructosa bifosfatasa, quien rompe el grupo fosfato de la posición C-1. Esta reacción es esencialmente irreversible y representa el primer paso comprometido en la ruta de la biosíntesis de sacarosa. Parte de la fructosa 6-fosfato formada como se mencionó antes, se convierte en glucosa 6-fosfato por la enzima fosfohexosa isomerasa, la cual es a su vez transformada en glucosa 1-fosfato a través de la acción de la fosfoglucomutasa. En la siguiente reacción la UDP-glucosa pirofosforilasa cataliza la formación de UDP-glucosa, el sustrato para la biosíntesis de sacarosa. En seguida la sacarosa fosfato sintasa cataliza la formación de sacarosa 6-fosfato uniendo la UDP-glucosa y la fructosa 6-fosfato. La sacarosa fosfato sintasa es otra enzima reguladora y junto con la fructosa bifosfatasa sirve para coordinar la tasa de síntesis de sacarosa con la tasa de fotosíntesis. La última reacción de la secuencia es catalizada por la sacarosa 6-fosfo fosfatasa, la cual hidroliza la sacarosa 6-fosfato a sacarosa y ortofosfato (Singh y Malohtra, 2000).

En plantas hay dos sistemas de síntesis de sacarosa, uno es a través de las reacciones catalizadas por la sacarosa fosfato sintasa y la sacarosa fosfo fosfatasa, el otro sistema es mediante la sacarosa sintasa. Los dos sistemas utilizan UDP-glucosa como el donador

de glucosa para la reacción. Sin embargo, en la primera serie de reacciones la sacarosa fosfato sintasa utiliza fructosa 6-fosfato como aceptor, mientras que la sacarosa sintasa utiliza fructosa. Estas dos reacciones análogas tienen diferentes constantes de equilibrio al mismo pH fisiológico porque la fructosa 6-fosfato puede únicamente asumir la forma furanosa, mientras que la fructosa asume las formas piranosa y furanosa. La reacción catalizada por la sacarosa sintasa es reversible, mientras que la reacción catalizada por la sacarosa fosfato sintasa es más a favor de la síntesis. Además la sacarosa 6-fosfato es hidrolizada por la sacarosa fosfo fosfatasa a sacarosa y ortofosfato, haciendo así irreversible la reacción de síntesis de sacarosa (Su, 2000).

2.8. CATABOLISMO DE SACAROSA

Hay dos reacciones que inician el rompimiento de la molécula de sacarosa para proporcionar intermediarios que entren en las rutas metabólicas de la célula y le proporcionen la energía y los sustratos que la célula requiere para sostener la viabilidad y el crecimiento. Una reacción que es común en los tejidos vegetales es la hidrólisis de la sacarosa catalizada por isoenzimas invertasas, para producir glucosa y fructosa. La segunda reacción es catalizada por la sacarosa sintasa, la cual puede convertir la sacarosa en UDP-glucosa y fructosa en presencia de UDP. Las hexosas libres pueden acumularse temporalmente o son fosforiladas a hexosas 6-fosfato por hexokinasas y fructokinasas dependientes de ATP. La UDP-glucosa puede ser usada directamente o después de su modificación, y puede ser transportada a otras partes de la célula para la síntesis de celulosa, calosa, pectina, almidón y muchos otros glicósidos. También puede proporcionar glucosa-1-fosfato para la respiración. La sacarosa sintasa se encuentra

en el citoplasma, mientras que las invertasas se encuentran en citoplasma, vacuola y apoplasto (Avigad y Dey, 1997). En muchas plantas hay dos formas solubles de invertasa y una forma insoluble en la pared celular (Su, 2000).

2.9. TRANSPORTE DE AZÚCARES

La sacarosa y sus derivados representan las principales formas de carbono fotosintéticamente asimilado en las plantas. La sacarosa sintetizada en las hojas verdes se exporta vía floema para proporcionar recursos de carbono y energía a los órganos no fotosintéticos. La sacarosa no sólo funciona como un metabolito de transporte, contribuye también a la fuerza osmótica para la translocación vía floema (flujo de masas) y sirve como señal para activar o reprimir genes específicos de varios tejidos. El transporte a larga distancia de la sacarosa depende de una familia de proteínas que actúan como acarreadores. El análisis de plantas transgénicas que no tienen expresión para transportadores de sacarosa ha demostrado que el transportador de sacarosa 1 (SUT1) es esencial para su translocación en papa y tabaco. Estos resultados, junto con la localización del transportador SUT1 en los tubos cribosos, indican que la carga del floema ocurre en los tubos cribosos por la absorción de la sacarosa del apoplasto, la cual pasa a través de la membrana. Los transportadores de sacarosa identificados hasta el momento pertenecen a una sola familia de genes. Algunos de los miembros de la familia más recientemente identificados tienen funciones específicas, como la nutrición de las semillas en desarrollo o del polen (Lalonde, *et al.*, 1999).

El transporte de azúcares puede darse vía simplasto o vía apoplasto. El transporte vía simplasto es a través de los plasmodesmos que comunican las células acompañantes y de parénquima, para la transferencia hacia los tubos cribosos del floema. En cambio,

el transporte vía apoplasto requiere el paso de los azúcares de la pared celular al citosol a través de la membrana plasmática, y del citosol a la pared, atravesando de nuevo la membrana, para pasar a la célula siguiente. Así se trasladan del mesófilo de las hojas al floema, y de éste a los órganos de demanda. En la membrana plasmática hay un sistema de transportadores, pero también hay sistemas similares en otros compartimentos subcelulares, especialmente en la vacuola, la cual sirve como almacén provisional de azúcares y otros metabolitos (Lalonde, *et al.*, 1999).

El transporte en floema ocurre debido a una diferencia de presión hidrostática. Se cree que la entrada de la sacarosa en los tubos cribosos aumenta la diferencia de presión entre los dos extremos de los conductos del floema; esto produce el movimiento de la savia por flujo de masas. La velocidad de translocación en el floema es relativamente alta, y va de 0.5 a 3 m h⁻¹. El floema contiene una bomba osmótica cuya eficiencia depende principalmente de las funciones cooperativas de tres tipos de proteínas de la membrana plasmática: (a) proteínas que transportan protones H⁺ y sacarosa en el mismo sentido; (b) enzimas ATPasas que proporcionan la energía necesaria para el transporte activo; y (c) transportadores de agua, o aquaporinas, que toman el agua procedente del xilema (Lalonde, *et al.*, 1999).

En varias plantas se ha identificado también el transporte de monosacáridos. Los sustratos que son eficientemente transportados son D-glucosa, 3-O-metil-D-glucosa, 2-desoxi-D-glucosa, D-manosa y D-fructosa, mientras que la L-glucosa y la D-ribosa son poco transportados (Lalonde, *et al.*, 1999).

2.10. TRANSPORTADORES DE AZÚCARES

Tanto los transportadores para la absorción de sacarosa como los de monosacáridos se han identificado a nivel molecular. Los transportadores de sacarosa pertenecen a una familia llamada SUT, y muchos de los transportadores de monosacáridos pertenecen a la familia de las hexokinasas. En levadura la familia de transportadores contiene 34 genes que codifican para proteínas permeasas o transportadoras, de éstos 20 genes pertenecen a la subfamilia de las hexokinasas. La expresión de los genes para hexokinasas es regulada por la concentración de glucosa y por las proteínas Snf3 y Rgt2 que funcionan como sensores. En *Chlorella kessleri* se ha identificado un transportador de hexosas codificado por el gen HUP1 (hexose uptake protein 1). Los transportadores de levaduras y los de *Chlorella k.* son similares, son proteínas de membrana compuestas de 12 dominios (Lalonde, *et al.*, 1999).

Un aspecto importante es que los transportadores de sacarosa han sido encontrados tanto en las hojas fuente como en los órganos demanda, lo cual indica que cumplen una doble función en la carga y en la descarga del floema. Se han encontrado transcripciones para transportadores de sacarosa en las células de transferencia de los cotiledones de *Vicia* y de chícharo. Se ha identificado también un transportador de sacarosa específico del polen de tabaco (Lalonde, *et al.*, 1999).

2.11. SÍNTESIS DE ALMIDÓN

El almidón se acumula en forma de granos de diferente tamaño, composición y momento de ocurrencia. Los granos de almidón pueden ser sintetizados en los cloroplastos o en organelos especializados llamados amiloplastos (Singletary, 2000). Los granos de almidón están compuestos de dos clases de polisacáridos: amilosa

y amilopectina. La primera está constituida por cadenas largas, no ramificadas, de unidades de D-glucosa conectadas por enlaces α (1-4). La amilopectina, por el contrario, está muy ramificada. Los enlaces glicosídicos que unen los restos de glucosa son enlaces α (1-4); los puntos de ramificación están separados por alrededor de 24 a 30 unidades de glucosa y son enlaces α (1-6) (Nelson y Cox, 2000). En los granos de almidón la amilopectina ocupa entre el 70 y el 75 % (Singh y Malohtra, 2000).

Spilatro y Mahlberg (1990) estudiaron la morfología de los granos de almidón en los amiloplastos de las células laticíferas de la nochebuena. Encontraron que cuando la planta está en estado vegetativo tiene granos de almidón en los tallos y en las hojas, los granos de almidón son alargados y miden entre 3 y 60 μm . El tamaño del grano es mayor en los tallos que en las hojas; así mismo, es mayor en los tejidos viejos que en los jóvenes. Bajo condiciones de día corto, al ocurrir la floración, se formaron granos redondos en los tallos; éstos tienen un diámetro entre 3 y 10 μm , y no hay granos redondos en las hojas ni en las brácteas. Cuando se da la floración se tienen granos alargados, tanto en las hojas como en los tallos, pero son de menor tamaño que los granos encontrados en la etapa vegetativa. El cambio en la forma y el tamaño de los granos de almidón indica que este compuesto está siendo transformado en los amiloplastos. No se ha demostrado que la reducción del tamaño de los granos de almidón este asociada con el rompimiento de la molécula, pero se supone que así es y que el rompimiento es mediado por las amilasas existentes en el látex, enzimas que han sido reportadas con anterioridad. No se ha podido demostrar esta relación porque la síntesis y el desdoblamiento ocurren al mismo tiempo, pero en diferentes amiloplastos. La cantidad de granos de almidón es menor en el tallo que en las hojas. En la hoja

se incrementa el número de granos a medida que esta crece y después permanece constante (Spilatro y Mahlberg, 1990).

La función que se le ha dado al almidón presente en el látex es la de sellar las heridas, pero debido a su continua actividad metabólica se sugiere que tiene además otras funciones (Spilatro y Mahlberg, 1990).

En los tejidos que almacenan almidón, la sacarosa es el sustrato principal para la síntesis de este compuesto. Los productos más importantes del metabolismo de la sacarosa son UDP-glucosa y ADP-glucosa (adenosin difosfato-glucosa), fructosa, y algo de glucosa. Como el nucleótido donador para la síntesis de almidón es el ADP-glucosa, probablemente los otros tres productos se convierten en ADP-glucosa. Esta ADP-glucosa también puede provenir de la fructosa-6-fosfato que se forma en el ciclo de Calvin como un sustrato derivado de la fotosíntesis (Duffus y Duffus, 1984). La fructosa 6-fosfato es transformada en glucosa 6-fosfato con la intervención de la enzima fosfohexosa isomerasa. Después la glucosa 6-fosfato pasa a glucosa 1-fosfato por la acción de la fosfoglucomutasa. La ADP-glucosa pirofosforilasa cataliza el cambio de glucosa 1-fosfato a ADP-glucosa. Finalmente, para la formación de almidón a partir de la glucosa procedente de ADP-glucosa intervienen las enzimas almidón sintasa y ramificadora (Singh y Malohtra, 2000). La conversión de la glucosa 1-fosfato a ADP-glucosa puede ser considerada como el primer paso comprometido en la biosíntesis de almidón. En los tejidos fotosintéticos la enzima que cataliza esta reacción se localiza en el cloroplasto, al igual que todas las enzimas que intervienen en los pasos posteriores de la síntesis de almidón (Shulman *et al.*, 2000).

Hasta el momento se sabe que hay cuatro tipos de enzimas que participan en la biosíntesis del almidón. La primera, la ADP-glucosa pirofosforilasa interviene

en la conversión de glucosa 1-fosfato a ADP-glucosa. La segunda clase, las enzimas almidón sintasas, catalizan la polimerización de los residuos de glucosa derivados de ADP-glucosa. Las enzimas ramificadoras, o enzimas Q, son el tercer tipo y se encargan de la formación de los enlaces α (1-6) presentes en la amilopectina. El cuarto tipo son las enzimas desramificadoras, cuyos miembros caen en las familias isoamilasas y pullulanasas (Singletary, 2000).

Los elementos que participan en la síntesis de almidón son la ADP-glucosa, las enzimas y las maltodextrinas como moléculas iniciadoras o “primers”. Existen varios tipos de enzimas almidón sintasas, hay las llamadas unidas al grano y las solubles. Tanto la enzima almidón sintasa soluble como la unida al grano usan ADP-glucosa como sustrato para el alargamiento de la cadena. La enzima almidón sintasa unida al grano participa en la síntesis de amilosa. En los mutantes de maíz, arroz, cebada, trigo, papa, chícharo y amaranto, que no tienen este tipo de almidón sintasa, no se sintetiza amilosa. En los cereales a este tipo de mutantes se les llama de grano ceroso, y en las dicotiledóneas se dice que son libres de amilosa. La enzima almidón sintasa soluble es la responsable del alargamiento de la cadena de amilopectina; en papa, por ejemplo se han encontrado tres isoformas, dentro de las cuales la más importante es la SSIII (Viola, 2000).

Se ha sugerido que en la formación del grano de almidón se sintetiza primero la amilopectina y después la amilosa. Todos los mutantes libres de amilosa tienen el mismo contenido de almidón y contienen granos de almidón similares en apariencia a los que tienen los dos polímeros, eso implica que la amilosa no es esencial para la generación del grano de almidón (Viola, 2000).

2.12. DEGRADACIÓN DEL ALMIDÓN

La degradación del almidón incluye tres etapas: primero, los granos de almidón se rompen probablemente por la enzima α -amilasa y originan maltodextrinas; segundo, las maltodextrinas se convierten en glucosa y glucosa-1-fosfato por la acción de las enzimas β -amilasa y α -glucosidasa; tercero, la glucosa o glucosa-1-fosfato es transformada y utilizada, o transportada a las células que la requieran (Duffus y Duffus, 1984).

La enzima α -amilasa rompe los enlaces α (1-4), tanto en la amilosa como en la amilopectina, y produce una mezcla de maltosa y oligosacáridos de bajo peso molecular. La hidrólisis de la amilosa produce maltodextrinas, las cuales son hidrolizadas después a glucosa, maltosa y maltotriosa (Duffus y Duffus, 1984).

La enzima β -amilasa hidroliza los enlaces α (1-4) de amilosas y amilopectinas. Actúa en las cadenas externas de la amilopectina y no puede pasar los puntos de ramificación para actuar en el interior de la molécula. Los productos de una hidrólisis exhaustiva son maltosa y dextrinas de alto peso molecular, con residuos de glucosa en los puntos de ramificación. Esta enzima está en forma inactiva en las semillas secas, y cuando es activada por una proteína disulfuro reductasa se inicia el desdoblamiento del almidón (Duffus y Duffus, 1984).

Las enzimas α -glucosidasas hidrolizan el enlace α (1-4) de las dextrinas y liberan glucosa. Pueden degradar maltotriosa, maltotetraosa, dextrinas, amilosa, amilopectina y almidón soluble (Duffus y Duffus, 1984).

Las enzimas desramificadoras hidrolizan el enlace α (1-6) de la amilopectina y de las dextrinas. Las enzimas desramificadoras de plantas son clasificadas como pullulasas (Duffus y Duffus, 1984).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Para lograr los objetivos planteados se realizaron dos experimentos, el primero en 2004 y el segundo en 2005, los cuales se describen a continuación.

3.1. EXPERIMENTO DEL 2004

El primer experimento se llevó a cabo en un invernadero de Xocotlán, perteneciente al municipio de Texcoco, Méx., ubicado a 19°29' latitud norte y 98°53' longitud oeste. El trasplante se hizo el 20 de mayo y la cosecha el 17 de diciembre de 2004. Se utilizó esqueje procedente de Oacalco, Morelos. Los tratamientos fueron los cultivares Supjibi y Peter Star. Se trasplantaron 104 plantas de cada cultivar. El manejo fue el mismo que realiza el productor, la única práctica diferente fue el despunte: el productor llevó a cabo tres despuntes en el cultivo comercial, y en el experimento se realizaron sólo dos. Se proporcionó a las plantas un día corto artificial desde el 15 de septiembre hasta la cosecha. El cultivo se tapaba con plástico negro a las 5:00 p.m. y se destapaba a las 9:00 a.m., con lo cual se lograba una noche de 16 horas y un día de ocho (Figuras 1 al 6).

Durante el ciclo vegetativo del cultivo se registró la temperatura, la humedad relativa y la intensidad luminosa a través de una microestación meteorológica (Data logger). La temperatura media en el ciclo de vida de las plantas fue de 17.1 °C, la mínima extrema de 2.9 °C se presentó en el mes de noviembre, y la máxima extrema de 35.3 °C se presentó en el mes de junio.



Figura 1. Trasplante de nochebuena.



Figura 2. Plantas de nochebuena antes del inicio de coloración de brácteas.



Figura 3. Cultivar Supjibi.



Figura 4. Cultivar Peter Star.



Figura 5. Foto del experimento, antes de la cosecha.



Figura 6. Panorámica del experimento, con el cultivo comercial al fondo.

3.1.1. VARIABLES AGRONÓMICAS

Se midió la altura de las plantas cada 15 días durante todo su ciclo de vida. Se determinó el área foliar y el área de brácteas cinco veces a lo largo del ciclo del cultivo, la determinación se hizo mediante un integrador marca LI-COR, Inc., modelo LI-3100. Se obtuvo el peso seco total y de cada órgano (raíz, tallo, hoja, pecíolo y bráctea) cinco veces en el ciclo vegetativo. Por último, se contó el número de ramas y se midió el diámetro final de “flor”, entendiendo por “flor” al conjunto de brácteas.

3.1.2. MUESTREO PARA EL TRABAJO DE HISTOLOGÍA

Para determinar la fecha de iniciación floral se hicieron cortes de meristemo apical. Se efectuaron cinco muestreos a lo largo del ciclo de vida de la planta, desde el 27 de julio hasta el 11 de octubre (las plantas tenían una edad entre 68 y 144 días después del trasplante). Se llevaron cuatro plantas de cada cultivar al laboratorio, se colectaron cuidadosamente los meristemos de todas las ramas y se procesaron para hacer preparaciones permanentes para el microscopio óptico.

3.1.3. CORTE DE MERISTEMO APICAL

Esta parte del trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Histología y Citología General de la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Los meristemos se fijaron en FAA: este fijador es una mezcla de formaldehído, ácido acético glacial, alcohol etílico 96 % y agua destilada, en proporciones de 10 %, 5 %, 52 %, y 33 %, respectivamente. La fijación tiene el propósito de matar las células causando el menor daño posible en su estructura, y para lograrlo el tejido permaneció 48 horas en esta solución. Después, el tejido se deshidrató mediante una serie de inmersiones en alcohol

etílico a diferentes concentraciones (30 %, 50 %, 70 %, 96 %, 100 %), para lo cual los meristemas permanecieron alrededor de tres horas en cada una de las soluciones alcohólicas, con excepción de la solución al 100 %, en la cual permaneció nueve horas, puesto que se tenían tres recipientes con alcohol absoluto. Posteriormente, el tejido se mantuvo tres horas en una mezcla de alcohol 100 % y xileno en partes iguales; y más tarde, estuvo nueve horas en xileno, tres horas en cada uno de tres recipientes. Las funciones del xileno son blanquear las células para que la tinción sea más eficiente y facilitar la impregnación de las células con parafina. Como último paso del acondicionamiento del tejido, los meristemas permanecieron durante 27 horas en parafina líquida, tres horas en la primera impregnación y 24 horas en la segunda. Los cambios, para que el tejido estuviera en las diferentes soluciones, se hicieron en el procesador automático de tejidos o histokinette T/P 8000 de American Optical (Figura 7). Más tarde, de manera manual, se hizo la inclusión de los meristemas en parafina, usando para ello moldes de aluminio pequeños. Se dejó que la parafina se enfriara y una vez sólida se hicieron pirámides, cada una con un meristemo; las pirámides se fijaron a un pequeño bloque de madera y se llevaron al microtomo rotatorio para hacer cortes longitudinales del tejido. Se utilizó un microtomo 820 de American Optical (Figura 8). El grosor de los cortes fue entre 10 y 12 μm . Los cortes de tejido se pegaron en portaobjetos con adhesivo de Haupt, se secaron y se llevaron al tren de teñido. El adhesivo de Haupt se preparó con grenetina, glicerina, fenol en cristales y agua destilada, en proporciones de 1 %, 13 %, 2 % y 84 %, respectivamente. Durante la tinción se sumergieron los portaobjetos en una serie de recipientes con xileno y alcohol etílico a diferentes concentraciones, después se pusieron en el colorante rojo safranina,

más tarde en otra serie de recipientes con alcohol, después en el colorante verde rápido, y por último en una nueva serie de recipientes con alcohol y xileno. En detalle, el tren de teñido estuvo constituido por tres recipientes con xileno, varios con alcohol etílico (100 %, 96 %, 70 % y 50 %), safranina, agua destilada, alcohol etílico (50 %, 70 %, 96 %), verde rápido, cuatro recipientes con alcohol absoluto, y tres con xileno. El tejido permaneció cinco minutos en el xileno ubicado antes de los colorantes, en todos los recipientes con alcohol durante tres minutos, en la safranina 30 minutos, en el verde rápido 2 minutos 40 segundos; por último, estuvo tres minutos en cada uno de tres recipientes con xileno, ubicados después del colorante. La safranina se preparó a una concentración del 1.3 % en alcohol etílico 50 %, y el verde rápido a una concentración del 0.26 % en alcohol etílico 96 %. Una vez teñidos, los cortes se montaron para su preservación con resina sintética y un cubreobjetos. Finalmente, las preparaciones se mantuvieron en la estufa a 35-40 °C durante un mes para su secado. Con el procedimiento anterior se obtuvieron preparaciones permanentes que pueden durar muchos años en buen estado.

3.1.4. MUESTREO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES Y ALMIDÓN

Para determinar el tipo y cantidad de azúcares solubles, así como la cantidad de almidón presente en cada uno de los órganos se realizaron seis muestreos destructivos a lo largo del ciclo de vida de la planta, desde el 27 de agosto hasta el 22 de noviembre (las plantas tenían una edad entre 99 y 186 días después del trasplante). Se utilizaron tres plantas por cultivar en cada muestreo y se obtuvo un gramo de tejido fresco de raíz, tallo, hojas maduras y hojas jóvenes, sumando 72 muestras por cultivar para todo el ciclo. Es importante señalar que en las últimas dos fechas de muestreo las brácteas sustituyeron

a las hojas jóvenes; por lo tanto, todos los datos reportados como hojas jóvenes, en las últimas dos fechas corresponden a brácteas. En los resultados se hará referencia a hojas maduras, estas son las hojas verdes inferiores de la planta; hojas jóvenes, que son las hojas color verde claro de la parte superior de la planta, antes de la pigmentación; y brácteas, las hojas modificadas de color rojo.

3.1.5. EXTRACCIÓN ALCOHÓLICA DE AZÚCARES SOLUBLES

Esta parte del trabajo se realizó en el Laboratorio de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, mediante la metodología de Ortega y Rodríguez (1979), con ligeras modificaciones. Se pesó 1 gramo de material vegetal, se cortó en pequeños trozos y se colocó en un matraz, se adicionaron 20 ml de alcohol etílico al 80 %, se calentó sobre una parrilla eléctrica durante 15 minutos, se agregaron otros 20 ml de alcohol y se calentó nuevamente por 15 minutos. Se guardó en refrigeración durante una semana, se filtró, se conservó el residuo sólido para la determinación de almidón, se evaporó el alcohol poniendo el frasco con la muestra en baño maría, y se obtuvo un extracto sólido que contenía, entre otras cosas, los azúcares solubles (Anexo 1). Las muestras para cuantificar azúcares se mantuvieron a 6 °C durante varios días, hasta que se inyectaron en el cromatógrafo.

3.1.6. DESDOBLAMIENTO DEL ALMIDÓN

Las actividades relacionadas con la hidrólisis del almidón también se efectuaron en el Laboratorio de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia, mediante la metodología de Ortega y Rodríguez (1979), con ligeras modificaciones. La cuantificación del almidón se hizo de manera indirecta, desdoblado la molécula y cuantificando los azúcares que de ella se derivaron. Para la hidrólisis se utilizó el residuo sólido que quedó

después de la extracción de los azúcares solubles, se puso la muestra en baño maría durante veinte minutos para reblandecer el tejido y gelatinizar el almidón; se agregó diastasa, una mezcla de enzimas amilolíticas, y se dejó durante media hora en un baño maría a 55 °C. Para confirmar que la hidrólisis había sido completa se hizo en el residuo la prueba de yodo para almidón, o prueba de lugol; después se adicionó ácido clorhídrico 1.125 N y se dejó dos horas y media en el baño maría a 55 °C; y por último, se ajustó el pH a 8.0 con hidróxido de sodio (Figura 9 y Anexo 2). El residuo para la determinación de almidón se conservó a menos 20 °C hasta que se sometió al proceso de hidrólisis, y las muestras después del desdoblamiento del almidón se mantuvieron a 6 °C hasta que se inyectaron en el cromatógrafo.

3.1.7. CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES SOLUBLES Y AZÚCARES DERIVADOS DE ALMIDÓN

El trabajo de cromatografía de líquidos se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Analítica Orgánica del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Para identificar los azúcares solubles y los azúcares derivados del desdoblamiento del almidón, así como para cuantificar ambos tipos de azúcares, se utilizó la técnica de cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC), utilizando estándares como referencia. El cromatógrafo utilizado era de marca Agilent, modelo 1100, con sistema de bombas binario, detector de índice de refracción y horno para columnas (Figuras 10, 11 y 12). El tipo de columna fue la nucleosil 100NH₂, de 250 mm de largo y 4.6 mm de diámetro. El solvente, una mezcla de acetonitrilo y agua grado HPLC, en una proporción de 80 a 20, y el flujo 1 ml por minuto. Para la separación de monosacáridos y disacáridos el tiempo de análisis fue de 20 minutos por muestra.



Figura 7. Procesador automático de tejidos o histokinette.

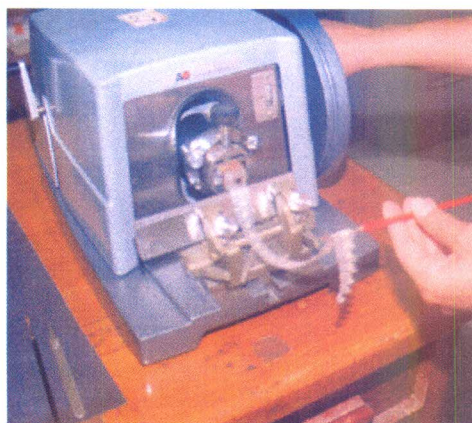
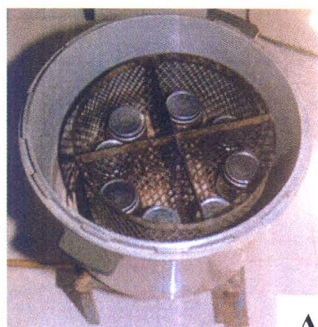


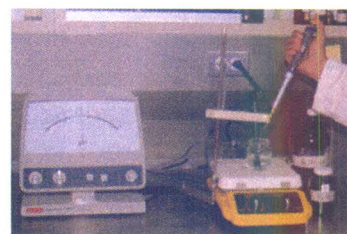
Figura 8. Microtomo rotatorio de Minot.



A



B



C

Figura 9. Desdoblamiento de almidón: (A) baño maría, (B) adición de amilasas y HCl, (C) ajuste de pH.

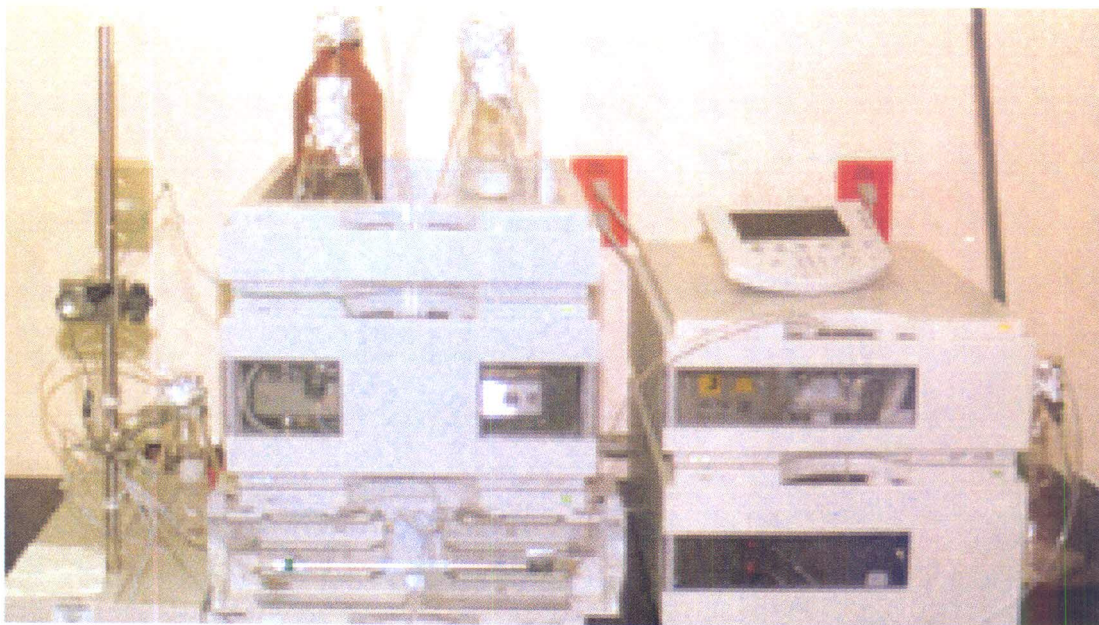


Figura 10. Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC).

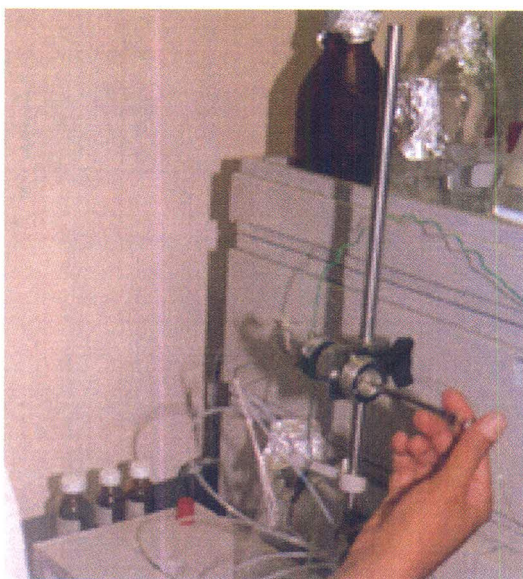


Figura 11. Dosificación de la muestra para inyectar en HPLC.



Figura 12. Inyección de la muestra en HPLC.

Para identificar el tipo de azúcares presentes en las muestras se prepararon estándares con 5 mg de los azúcares químicamente puros, se disolvieron en 1 ml de agua desionizada y se inyectaron 16 microlitros de la solución. La preparación de la muestra para azúcares consistió en agregar 1 ml de agua desionizada y filtrarla. En cambio, la muestra para azúcares derivados de almidón sólo se filtró, puesto que era de naturaleza líquida por el agua con diastasa y el ácido agregados en el proceso de desdoblamiento. En ambos casos se inyectaron 20 microlitros de muestra. La identificación de los compuestos se hizo comparando el tiempo de retención de la muestra, o tiempo que tarda en salir de la columna el azúcar de la misma, con los tiempos de retención de los estándares o azúcares químicamente puros (Figuras 13 y 14). Diariamente se inyectaban los estándares, porque el tiempo de retención de los compuestos varía dependiendo de la temperatura y de la composición precisa del solvente. Para el análisis de azúcares solubles se inyectaron los siguientes estándares: fucosa (6-desoxi-galactosa), fructosa, glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, manosa, lactosa, ramnosa, trehalosa y rafinosa. Para el análisis de azúcares derivados de almidón se inyectaron fucosa, fructosa, glucosa, galactosa, sacarosa y maltosa.

En el proceso de cuantificación se utilizó el razonamiento matemático de una regla de tres simple: junto con el cromatograma, el equipo proporciona una tabla con áreas bajo la curva de todos los picos que representan los azúcares en la muestra; así mismo, con otro cromatograma proporciona el área bajo la curva del pico que representa el estándar. Puesto que éste tiene una cantidad de azúcar conocida, la regla de tres consiste en relacionar los tres datos conocidos con el dato desconocido; los tres conocidos son: área del estándar, concentración del estándar y área del azúcar presente en la muestra. El dato desconocido es la concentración del azúcar en la muestra.

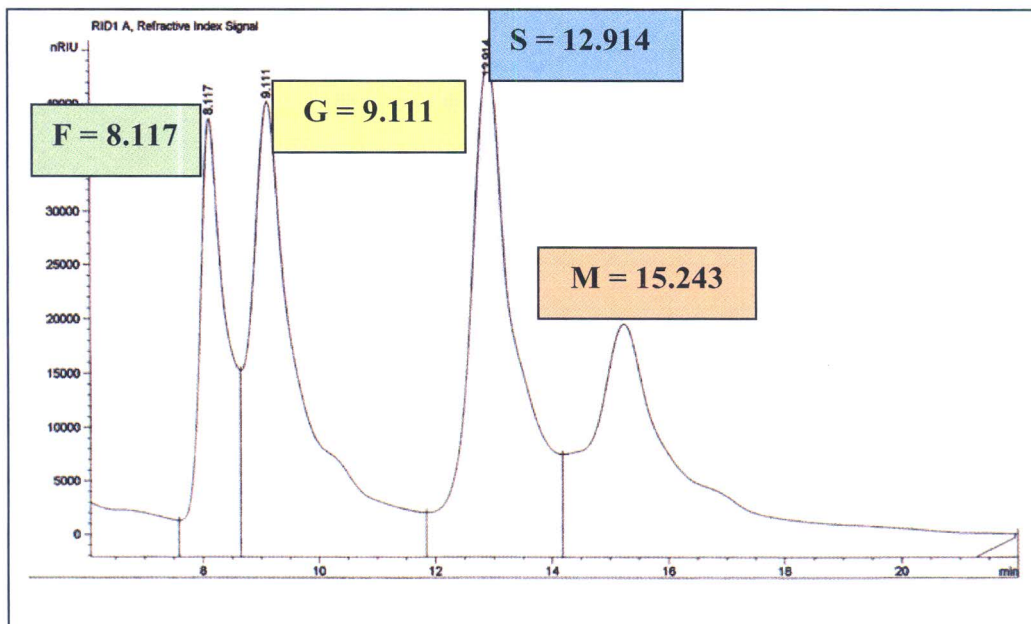


Figura 13. Cromatograma de una mezcla de cuatro azúcares químicamente puros. F, fructosa. G, glucosa. S, sacarosa. M, maltosa. Los números en los recuadros son tiempos de retención. En X se tienen tiempos de retención y en Y unidades del detector de índice de refracción.

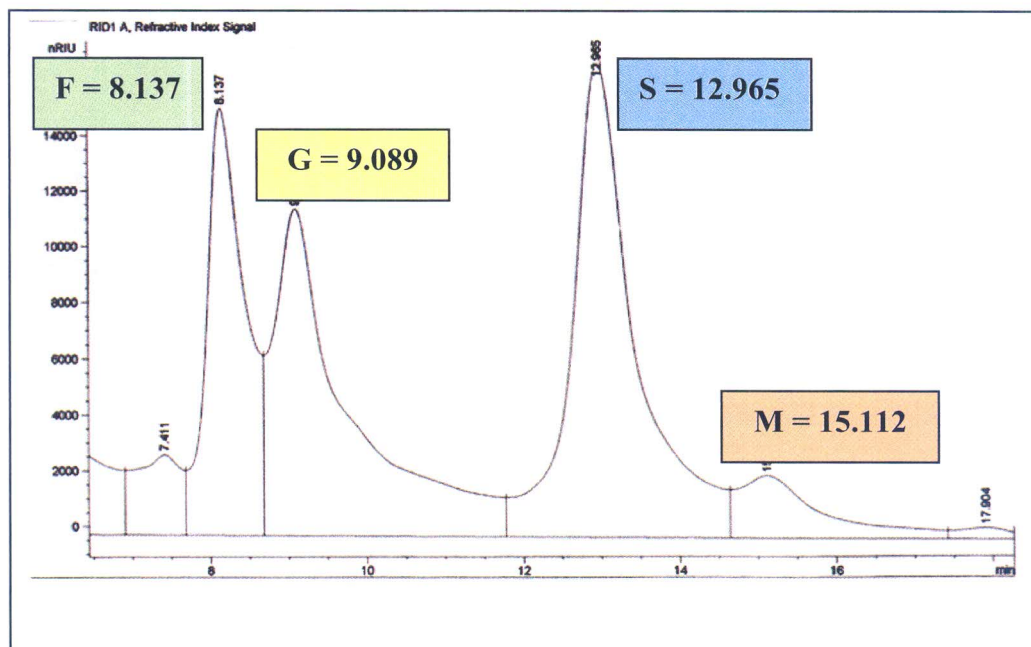


Figura 14. Cromatograma de una muestra. Los azúcares identificados por comparación con los estándares son: fructosa (F), glucosa (G), sacarosa (S) y maltosa (M). Los números en los recuadros son tiempos de retención. En X se tienen tiempos de retención y en Y unidades del detector de índice de refracción.

3.1.8. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

El experimento se planeó y se manejó con un diseño completamente al azar. Para el trabajo de invernadero los tratamientos fueron los dos cultivares, la unidad experimental fue una planta y para las variables agronómicas se tuvieron tres o cuatro repeticiones, dependiendo de la variable. Las cuantitativas fueron altura de planta, área foliar de hoja, área foliar de hoja más bráctea, área foliar de bráctea, número de ramas, número de hojas, peso seco total, peso seco de raíz, de tallo, de hoja, de pecíolo y de bráctea; por último, se consideró el diámetro final de la “flor” comercial. Las variables cualitativas fueron días a iniciación floral, días a ciatio primario visible, días a inicio de coloración de brácteas y días a antesis. Para las últimas tres variables se tomó el dato cuando el 50 % de las plantas presentaba la característica evaluada. Para procesar los resultados se hicieron análisis de varianza y pruebas de Tukey para comparación de medias. Las gráficas para el análisis de crecimiento se hicieron con promedios y se calculó el error estándar.

El experimento en el laboratorio se manejó también con un diseño completamente al azar; los tratamientos fueron los dos cultivares, la unidad experimental fue la muestra procedente de un órgano y se tuvieron tres repeticiones. Para el análisis de azúcares las variables fueron tipo y cantidad de azúcares solubles (a) en raíz, (b) en tallo, (c) en hojas maduras, y (d) en hojas jóvenes o brácteas; para el análisis de almidón las variables fueron tipo y cantidad de azúcares derivados de almidón (a) en raíz, (b) en tallo, (c) en hojas maduras y (d) en hojas jóvenes o brácteas. Para procesar los resultados se calcularon promedios aritméticos y se reportaron en diferentes tipos de gráficas: (a) concentración de azúcares solubles o azúcares derivados de almidón, a lo largo del ciclo vegetativo, (b) concentración de azúcares en cada órgano, a lo largo del ciclo vegetativo,

y (c) concentración de cada azúcar en los órganos de la planta en el momento de la iniciación floral.

3.2. EXPERIMENTO DEL 2005

El segundo experimento también se llevó a cabo en el invernadero de Xocotlán, Texcoco, México. Para dar continuidad al trabajo y reforzar los resultados obtenidos, en el otoño del 2005 se plantó el cultivar Supjibi en tres fechas de trasplante y bajo dos condiciones de fotoperíodo. Se trabajó con 150 macetas en total. Se tuvieron plantas de las tres fechas de trasplante dentro de dos condiciones de duración del día: la mitad de las plantas estuvieron sujetas al fotoperíodo natural, mientras que a la otra mitad se le proporcionó un día corto artificial a partir del 15 de septiembre. La duración del día corto natural desde septiembre hasta diciembre estuvo entre 12.1 y 11 horas, mientras que el día corto artificial fue de 8 horas. El fotoperíodo artificial se logró tapando las plantas con plástico negro; por otra parte, las plantas sujetas a fotoperíodo natural se taparon únicamente con plástico transparente. No se tuvieron temperaturas controladas en el invernadero. Las fechas de trasplante fueron 24 de junio, 15 de julio y 1 de agosto. Los seis tratamientos fueron los siguientes: (a) 24 de junio, tapando con plástico negro; (b) 15 de julio, tapando; (c) 1 de agosto, tapando; (d) 24 de junio, sin tapar con plástico negro; (e) 15 de julio, sin tapar; y (f) 1 de agosto, sin tapar. Se utilizó esqueje despuntado, además las plantas de la primera fecha recibieron el segundo despunte al trasplantar y el tercero un mes después; mientras que las plantas de las otras dos fechas sólo recibieron el segundo despunte al momento del trasplante. Las variables de tipo cualitativo fueron días a ciatio primario visible y días a inicio de coloración de brácteas. Se consideró el dato cuando el 50 % de las plantas presentaba la característica evaluada.

Durante el ciclo vegetativo del cultivo se registraron las temperaturas, la humedad relativa y la intensidad luminosa a través de una microestación meteorológica (Data logger); las plantas sometidas a fotoperíodo corto artificial estuvieron bajo condiciones de 17.3 °C como temperatura media, 2 °C temperatura mínima extrema en noviembre, y 38.8 °C temperatura máxima extrema en julio; por otro lado, las plantas bajo fotoperíodo natural estuvieron bajo condiciones de 17.2 °C como temperatura media, 0.7 °C temperatura mínima extrema en noviembre, y 43.42 °C temperatura máxima extrema en febrero.

El día 11 de diciembre se realizó un muestreo para determinar el contenido de azúcares y de almidón: se tomaron muestras de raíz, tallo, hojas maduras y hojas jóvenes o brácteas, y se procesaron y analizaron con la metodología descrita para las muestras del 2004. En las plantas tapadas con plástico negro se analizó la bráctea y en las que estuvieron sujetas a fotoperíodo natural se analizó la hoja joven, que aun no iniciaba la síntesis de antocianinas. En la fecha de muestreo las plantas tenían 170, 149 ó 132 días después de trasplante, dependiendo de la fecha de plantación. El trabajo de laboratorio se manejó con un diseño completamente al azar, la unidad experimental fue la muestra, se tuvieron dos repeticiones, y las variables para el laboratorio fueron las mismas que en el experimento del 2004. Para procesar los resultados se calcularon promedios y se obtuvieron conclusiones con base en la información numérica. Las fechas de cosecha fueron el 9 de diciembre para las plantas que se taparon con plástico negro y el 12 de febrero para las que no se taparon.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. VARIABLES AGRONÓMICAS

La altura del cultivar Supjibi fue mayor que la de 'Peter Star' durante todo el ciclo del cultivo (Figura 15). La altura final de 'Supjibi' fue de 49.1 cm, mientras que 'Peter Star' alcanzó 41.8 cm (Cuadro 1).

Las plantas de 'Supjibi' ramificaron menos que las de 'Peter Star', las primeras tuvieron entre 3 y 6 ramas, y las segundas entre 9 y 10. En ninguno de los dos cultivares se tuvieron problemas de desgajamiento de ramas. La ramificación es una característica genética; sin embargo, se puede manejar también mediante el despunte. Por ejemplo, las plantas del experimento tuvieron dos despuntes, uno al esqueje y otro al momento del trasplante; nuestro experimento estuvo rodeado por el cultivo comercial de nochebuena cultivar Supjibi, en este caso el productor realizó tres despuntes, el primero al esqueje, el segundo al esqueje durante el trasplante, y el tercero a la planta, tres meses después del trasplante. Al comparar las plantas de 'Supjibi' experimental y 'Supjibi' comercial encontramos grandes diferencias, determinadas por el despunte: las plantas del experimento presentaron en promedio cinco ramas y mostraban espacios vacíos entre ellas, sin embargo las plantas eran vigorosas y de hojas y brácteas muy grandes. Por otro lado, las plantas de 'Supjibi' comercial tuvieron en promedio diez ramas, pero los tallos eran débiles, las plantas fueron más bajas que las del experimento, y las hojas y brácteas fueron pequeñas. El tercer despunte sí es recomendable y debe realizarse entre 4 y 6 semanas después del trasplante.

Las plantas de 'Supjibi' experimental tuvieron una buena apariencia, se veían sanas, fuertes, con hojas muy grandes de color verde oscuro y brácteas grandes de color rojo intenso. Por su parte, las plantas de 'Peter Star', aunque también presentaron una bonita

apariciencia, fueron menos vigorosas, con más ramas y hojas, con brácteas de un rojo menos intenso y hojas de un color verde menos oscuro.

En relación al peso seco, 'Supjibi' presentó un mayor peso seco total (Cuadro 1 y Figura 16). Como se disectó la planta para conocer el peso seco de cada uno de sus órganos se pudo constatar que 'Supjibi' tuvo un mayor peso seco en raíz y tallo (Cuadro 2). Para este cultivar, tener una raíz grande y ramificada representa una característica agronómica deseable porque significa una absorción de nutrimentos más eficiente.

Cuando se considera el área foliar de hoja, así como el área foliar de hoja más bráctea, se advierte que no hubo diferencia significativa entre los dos cultivares; esto se explica porque el cultivar Peter Star compensó el hecho de poseer hojas pequeñas con una mayor cantidad (Cuadro 1 y Figura 17).

Desde el punto de vista comercial es muy importante el tamaño y el área de la bráctea. Aunque no se reporta una diferencia estadísticamente significativa en el área de bráctea, en las plantas de 'Supjibi' fue mayor, como puede observarse en el Cuadro 1 y la Figura 18. Relacionado con lo anterior, el diámetro final de "flor" en 'Supjibi' fue de 27.9 cm, mientras que en 'Peter Star' fue de 23.3 cm.

Cuadro 1. Variables agronómicas de dos cultivares de nochebuena^Z

Cultivar	Altura de planta (cm) ^Y	Área Foliar de hoja y bráctea (cm ²) ^X	Área foliar de hoja (cm ²) ^X	Área foliar de bráctea (cm ²) ^X	Número de hojas ^W	Peso seco total (g) ^V
Supjibi	49.1 ^U a	3706.5 a	2977.0 a	729.5 a	55.0 b	36.3 a
Peter Star	41.8 b	4109.4 a	3641.1 a	468.3 a	98.3 a	24.3 b
ANOVA	*	NS	NS	NS	*	*

^Z Todas las mediciones se hicieron en tres repeticiones, con excepción de altura de planta en la cual se tuvieron cuatro repeticiones.

^Y Altura final medida desde la corona hasta el ápice de la rama más alta (196 DDT).

^X Área medida a los 175 DDT

^W Se contaron a los 105 DDT

^V Peso seco obtenido a los 175 DDT

^U Prueba de Tukey al 0.05. Letras iguales denotan que no hay diferencia estadísticamente significativa. Letras distintas indican una diferencia estadísticamente significativa.

NS Prueba de F, diferencia no significativa al 0.05.

* Prueba de F, diferencia significativa al 0.05.

DDT, días después del trasplante.

Cuadro 2. Peso seco (g) de los órganos de dos cultivares de nochebuena^Z

Cultivar	raíz ^Y	tallo ^Y	pecíolo ^Y	hoja ^Y	bráctea ^Y
Supjibi	11.6 ^X a	11.0 a	1.7 a	10.3 a	1.7 a
Peter Star	4.5 b	7.1 b	1.4 a	10.2 a	1.0 a
ANOVA	*	*	NS	NS	NS

^Z Todas las mediciones se hicieron en tres repeticiones.

^Y Peso seco obtenido a los 175 DDT

^X Prueba de Tukey al 0.05. Letras iguales denotan que no hay diferencia estadísticamente significativa. Letras distintas indican una diferencia estadísticamente significativa.

NS Prueba de F, diferencia no significativa al 0.05.

* Prueba de F, diferencia significativa al 0.05.

DDT, días después del trasplante.

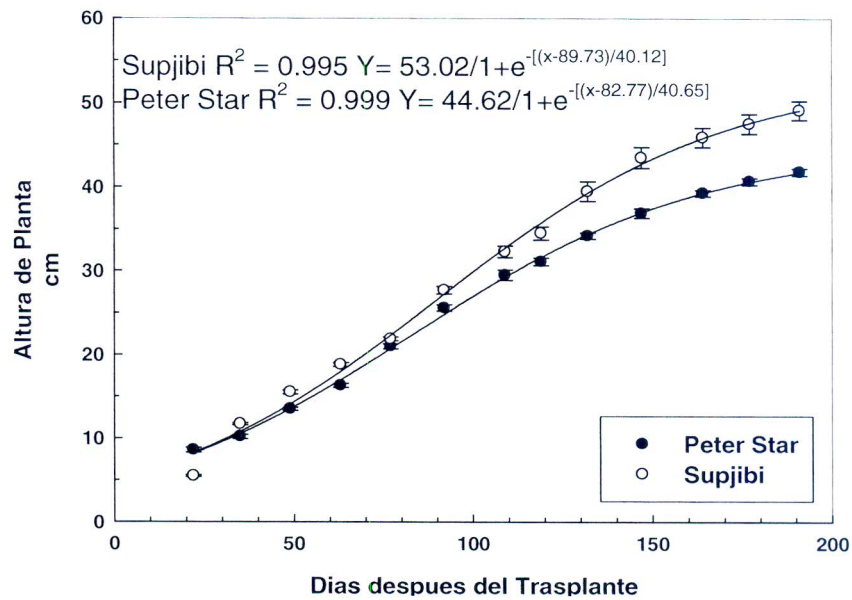


Figura 15. Altura de plantas de nochebuena en Texcoco, México. DDT, días después del trasplante.

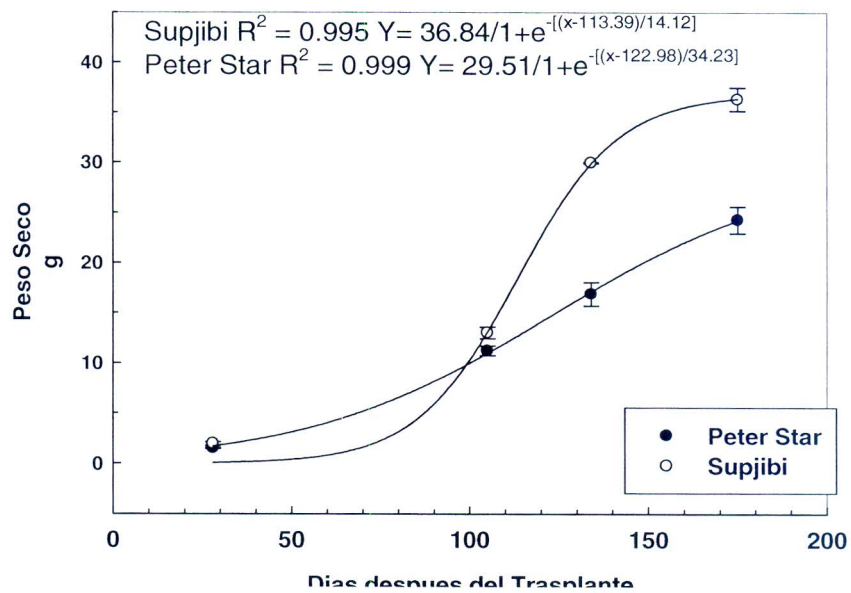


Figura 16. Peso seco de plantas de nochebuena en Texcoco, México. DDT, días después del trasplante.

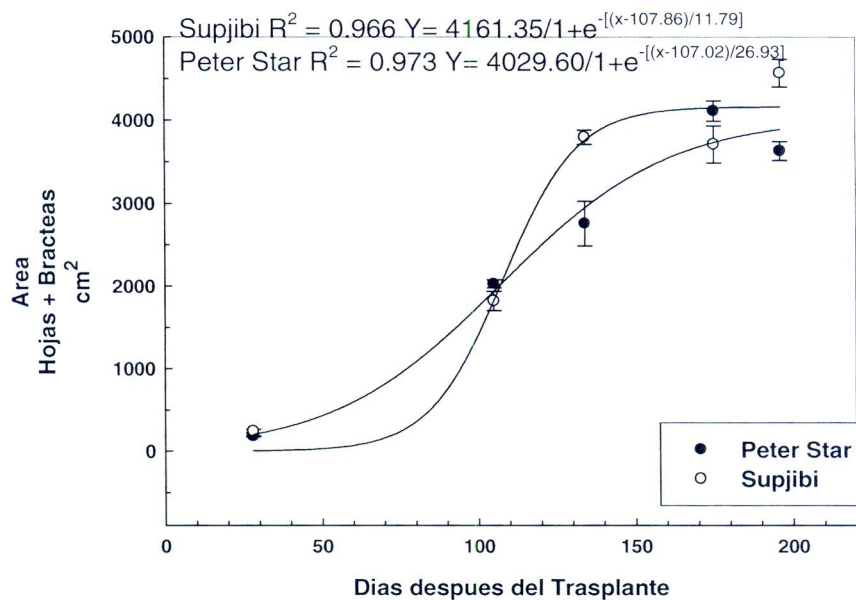


Figura 17. Área foliar de hojas más brácteas de plantas de nochebuena en Texcoco, México. DDT, días después del trasplante.

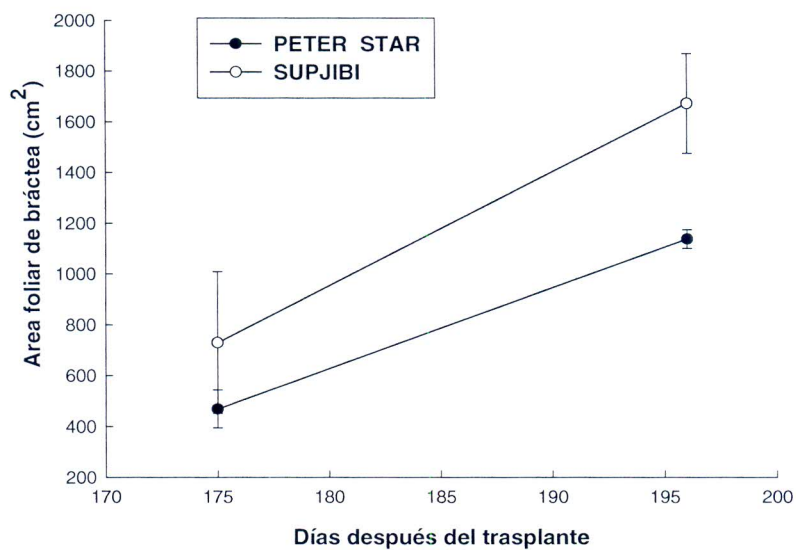


Figura 18. Área foliar de brácteas de plantas de nochebuena en Texcoco, México. DDT, días después del trasplante.

4.2. DESARROLLO FENOLÓGICO

El crecimiento y desarrollo inicial de 'Supjibi' fue más rápido que el de 'Peter Star' (Figura 19). En el primer cultivar la iniciación floral y la aparición del ciatio primario ocurrieron aproximadamente un mes antes; sin embargo, llegó a antesis con una diferencia de sólo diez días. Desde el punto de vista comercial, ambos cultivares lograron un crecimiento máximo de bráctea y estuvieron listos para el mercado casi al mismo tiempo. Las plantas de 'Supjibi' tardaron aproximadamente 25 días de iniciación floral a ciatio primario visible, mientras que las de 'Peter Star' tardaron 16 días. Por otro lado, el tiempo entre iniciación y antesis para 'Supjibi' fue de aproximadamente 102 días, en tanto que para 'Peter Star' fue de 73 días (Cuadro 3). Todo lo anterior indica que bajo las condiciones ambientales de Texcoco, México, el ciclo anual de vida de 'Peter Star' fue ligeramente más largo; sin embargo, el desarrollo reproductivo fue más rápido que el de 'Supjibi'.

Cuadro 3. Desarrollo fenológico de las plantas de dos cultivares de nochebuena en la región de Texcoco, México. Las plantas se taparon con plástico negro el 15 de septiembre, a los 118 días después del trasplante (DDT).

ETAPA o EVENTO	CULTIVAR	
	Supjibi, DDT	Peter Star, DDT
Crecimiento vegetativo	1-98	1-136
Iniciación floral	99	138
Desarrollo de órganos florales del ciatio primario	99-124	138-153
Ciatio primario visible	124	154
Inicio de coloración de brácteas	135	156
Aumento del área foliar y crecimiento inicial de brácteas	148-161	148-161
Crecimiento de brácteas	161-186	161-196
Antesis	201	211

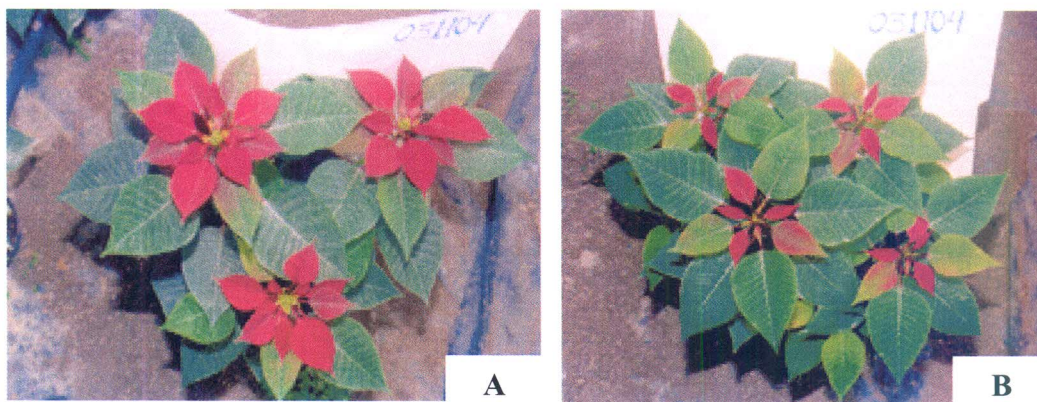


Figura 19. Crecimiento y desarrollo de las plantas de 'Supjibi' (A) y 'Peter Star' (B). Edad 167 días después del trasplante. Se aprecia un desarrollo inicial más rápido en 'Supjibi'.

4.3. FECHA DE INICIACIÓN FLORAL

En 'Peter Star' se observó el meristemo vegetativo y diferentes estados de desarrollo del meristemo reproductivo, en 'Supjibi' en cambio sólo se observó el meristemo vegetativo. En las Figuras 20A y 20B se aprecia el meristemo vegetativo de 'Supjibi' y de 'Peter Star', respectivamente. El muestreo se hizo el 27 de julio, cuando las plantas tenían 68 días después del trasplante (DDT). En las Figuras 20C a 20F se muestran los diferentes estados de desarrollo del meristemo reproductivo de 'Peter Star', desde iniciación hasta meristemo floral bien desarrollado. Todos los meristemos reproductivos son del 5 de octubre, cuando las plantas tenían 138 DDT. En el cultivar 'Peter Star' los primeros cambios microscópicos se detectaron a los 20 días después de que se proporcionó el fotoperíodo corto artificial; sin embargo, es probable que cuando la planta se tapó los procesos bioquímicos y celulares que conllevan a la iniciación floral ya se hubieran iniciado, debido a la llegada de los días cortos naturales.

Por el seguimiento que se hizo al desarrollo reproductivo del cultivar Supjibi se sabe que tanto la inducción, como la iniciación floral, ocurrieron antes del inicio del fotoperíodo corto artificial, y por los resultados encontrados por otros autores, quienes

reportan que se requieren 25 días cortos para que ocurra la diferenciación del ciatio primario (Struckmeyer y Beck, 1960), se supone que la iniciación sucedió a finales de agosto, alrededor de los 99 días después del trasplante. En esta región se tiene una duración del día propicia para inducción floral desde septiembre hasta abril; durante estos ocho meses se tienen días menores a 12.5 horas (Meulenert, 2004). En las plantas de 'Supjibí' la inducción floral ocurrió cuando estuvieron suficientemente maduras y cuando se presentaron los días cortos de manera natural. Al analizar el comportamiento de este cultivar se puede plantear que, en la región de Texcoco, México, los factores ambientales que limitan el desarrollo floral son la duración del día y las bajas temperaturas. En el microambiente de las plantas del experimento 2004, la temperatura alcanzó un mínimo absoluto de 2.9 °C en el mes de noviembre. Grueber (1985) señala que las temperaturas nocturnas de 10 °C ó menos ocasionan un retraso en la fecha de anthesis, lo cual implica un retraso en el desarrollo de los órganos florales. En el caso del cultivar Supjibi se plantea la hipótesis de que los agricultores pueden obtener nochebuena de buena calidad sin necesidad de tapar con plástico negro, siempre y cuando cuenten con temperaturas controladas en los invernaderos.

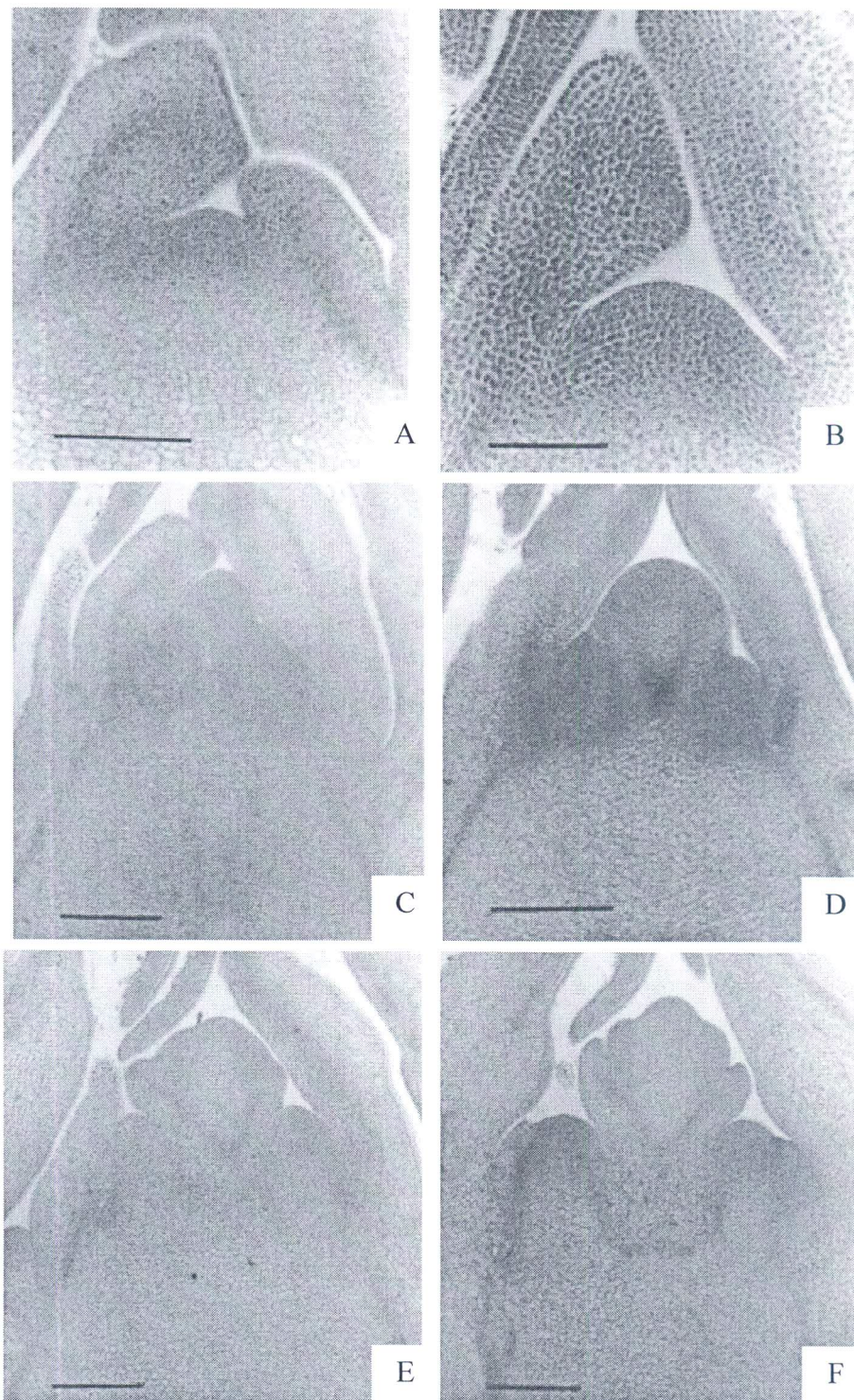


Figura 20. Corte longitudinal del meristemo apical de nochebuena. (A) Vegetativo de 'Supjibi'. (B) Vegetativo de 'Peter Star' (PS). (C) Iniciación floral de PS, puede verse el ciatio primario y dos ciatios secundarios. (D) Reproductivo de PS, puede verse el desarrollo inicial del ciatio primario. (E) Reproductivo de PS, pueden verse los primordios del ciatio primario. (F) Reproductivo de PS bien desarrollado. Los primordios del ciatio primario darán origen al involucre, las flores masculinas y la flor femenina; puede apreciarse también el desarrollo de los ciatios secundarios. En las fotografías A, C, D, E, y F la línea representa 0.2 mm, mientras que en la B representa 0.1 mm.

4.4. CONTENIDO DE AZÚCARES SOLUBLES

Se encontraron los siguientes monosacáridos y disacáridos, tanto en 'Supjibi' como en 'Peter Star': en raíz y tallo se identificó sacarosa, glucosa y fructosa; en hojas maduras y hojas jóvenes se encontró sacarosa, maltosa, glucosa y fructosa; en ambos casos los azúcares han sido enlistados de mayor a menor concentración. Para los anteriores se reportan las cantidades, aunque también se determinó la presencia de pequeñas cantidades de fucosa (6-desoxi-galactosa) y galactosa. Lalonde *et al.* (1999) también reportan la glucosa y la fructosa como sustratos eficientemente transportados en varias plantas; es decir, que se pueden localizar en el tallo.

La cantidad total de azúcares solubles encontrada en cada uno de los órganos en 'Supjibi' fue entre 0.5 % y 2.1 %, y en 'Peter Star' entre 1.1 % y 2.9 %, porcentajes con base en peso fresco (Figura 21). En ambos cultivares la cantidad de sacarosa en raíz, hojas maduras y hojas jóvenes fue mayor que los otros azúcares; generalizando, la cantidad de sacarosa en la planta fue alrededor de 3 a 4 veces mayor que los otros azúcares, y en las hojas fue de 3 a 7 veces más.

La raíz es un órgano de reserva, al cual se transloca la sacarosa y se almacena de manera temporal. A lo largo del ciclo anual de vida de la planta, la sacarosa estuvo presente en raíz, y se encontró en cantidades mayores que glucosa y fructosa, en promedio para todo el ciclo hubo 1.33 % de sacarosa, 0.04 % de glucosa y 0.12 % de fructosa. Cuando ocurrió la iniciación floral en 'Supjibi', a los 99 días después del trasplante (DDT), había una baja cantidad de sacarosa en la raíz (Figura 22). De manera similar, en la raíz de 'Peter Star' hubo una clara disminución del contenido de sacarosa a los 138 DDT, momento en que se dio la iniciación floral (Figuras 23 y 24). Cuando se registró el mayor incremento en el área foliar, y en la etapa de crecimiento de brácteas,

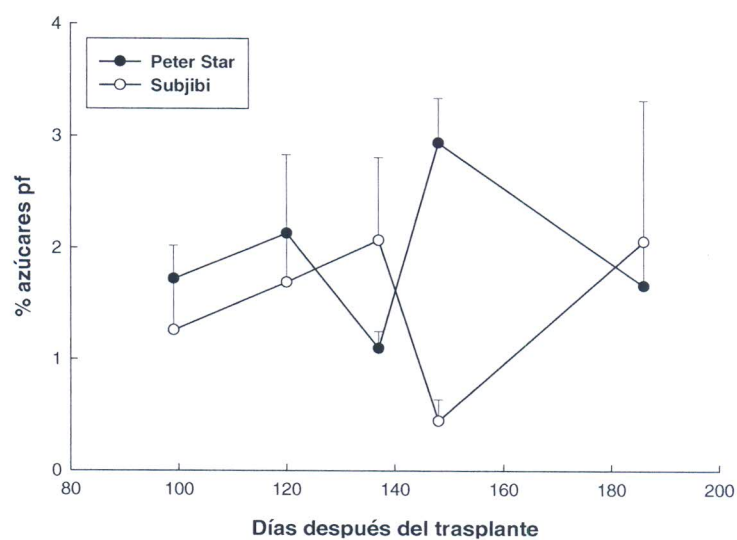


Figura 21. Total de azúcares solubles en dos cultivares de nochebuena en Texcoco, México. pf = con base en peso fresco. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

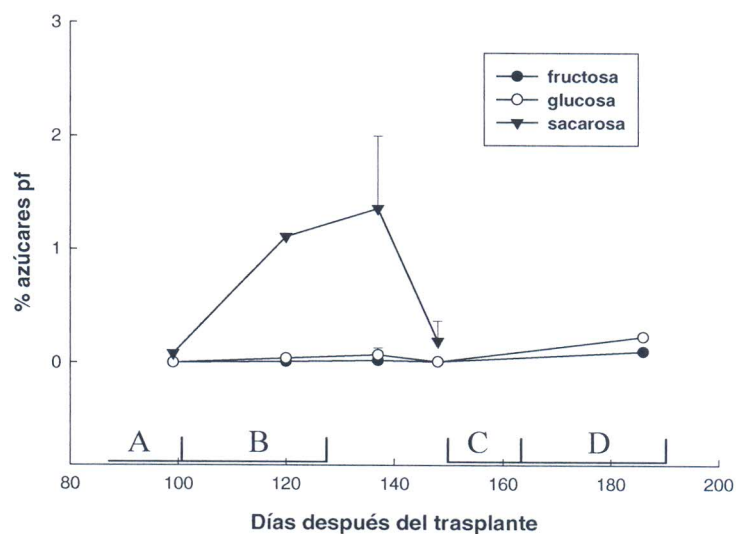


Figura 22. Azúcares solubles en la raíz del cultivar Supjibi de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

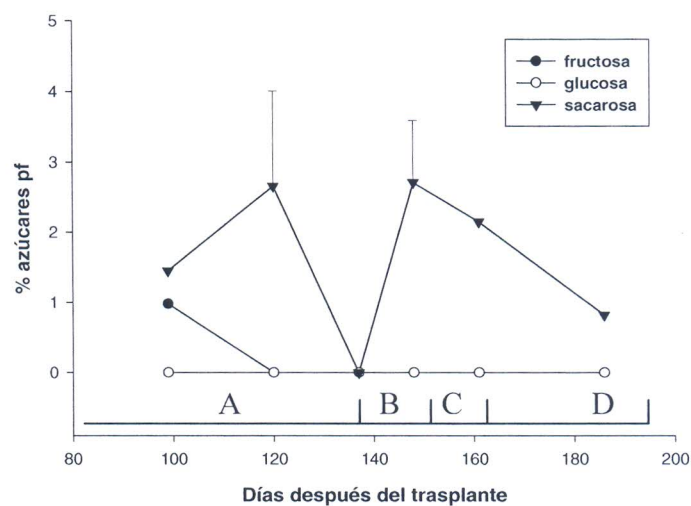


Figura 23. Azúcares solubles en la raíz del cultivar Peter Star de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

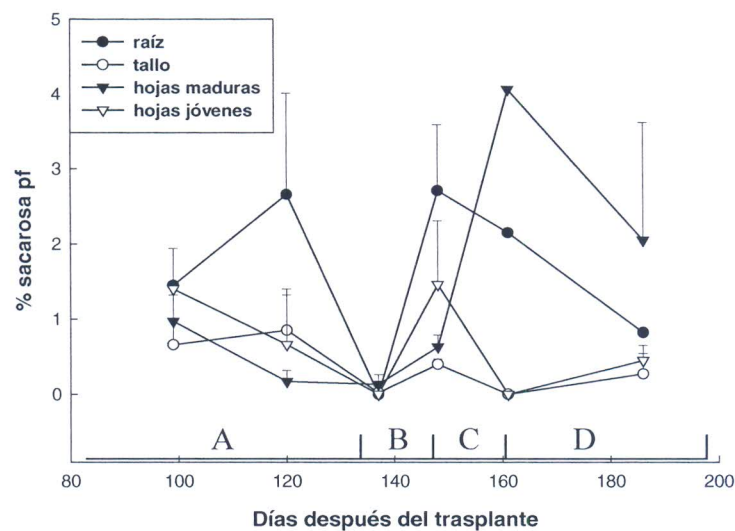


Figura 24. Contenido de sacarosa en los órganos del cultivar Peter Star de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

también ocurrió una disminución en la cantidad de sacarosa de la raíz (Figuras 22, 23, y 24). Se puede suponer que esta sacarosa está siendo translocada desde la raíz hasta los órganos de demanda, en donde se le encuentra como sus compuestos derivados glucosa y fructosa.

El comportamiento de la sacarosa en las hojas se puede observar en las Figuras 24, 25 y 26. La concentración de este disacárido, al igual que en raíz, disminuye en el momento de la iniciación floral. Resultados similares son reportados por Rolland *et al.* (2002), quienes señalan que para que haya floración en *Arabidopsis* se requiere la exportación de sacarosa de las hojas, y la movilización del almidón. La Figura 26 muestra que en las hojas jóvenes de 'Peter Star', cuando se dio la iniciación floral ocurrió al mismo tiempo la disminución de sacarosa y un aumento en el contenido de glucosa.

Las Figuras 27 y 28 muestran la ubicación de la sacarosa y la glucosa en cada uno de los órganos al momento de la iniciación floral. La Figura 27 revela el transporte de sacarosa por el contenido en tallo; si se observa la cantidad en los otros órganos, se puede confirmar que este disacárido procede de la raíz y de las hojas maduras, y se destina a las hojas jóvenes, y muy probablemente al meristemo apical. La Figura 28 indica que la glucosa está en mayores cantidades en el tallo y las hojas jóvenes, lo cual corrobora las observaciones anteriores, en donde la glucosa había sido ubicada en las hojas jóvenes en el momento de la iniciación floral.

En general se encontró que las hojas jóvenes y las brácteas contenían más glucosa y más fructosa que las hojas maduras. Parece natural que estos monosacáridos se ubiquen en las zonas de demanda, puesto que participan activamente en el metabolismo de la planta. Como ejemplo, la glucosa puede provenir de la sacarosa, del almidón o de la propia fructosa; es el sustrato preferido por la célula para la respiración (Lalonde *et al.*,

1999), y está presente en las moléculas de antocianinas de las brácteas (Asen, 1958), entre otras muchas funciones.

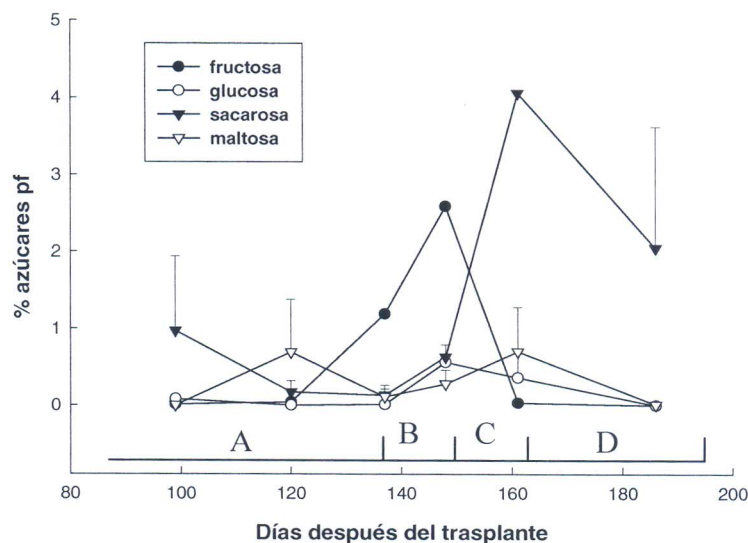


Figura 25. Azúcares solubles en las hojas maduras del cultivar Peter Star de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

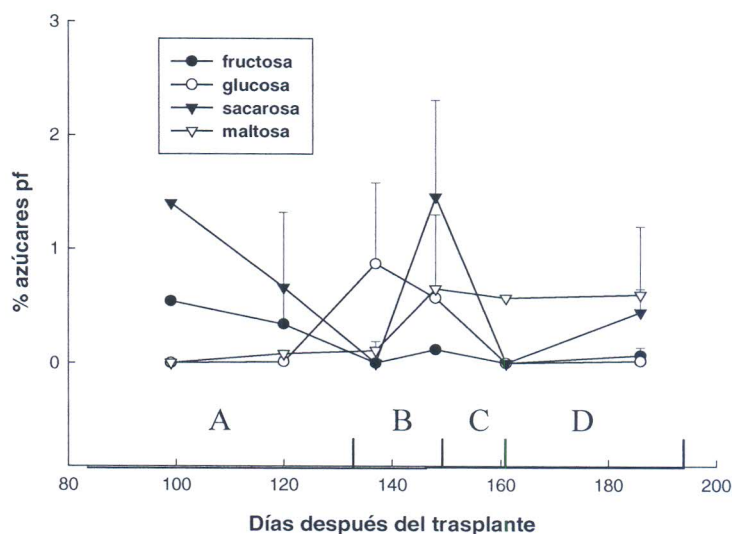


Figura 26. Azúcares solubles en las hojas jóvenes del cultivar Peter Star de nochebuena. Los datos de 161 y 186 días después del trasplante corresponden a brácteas. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

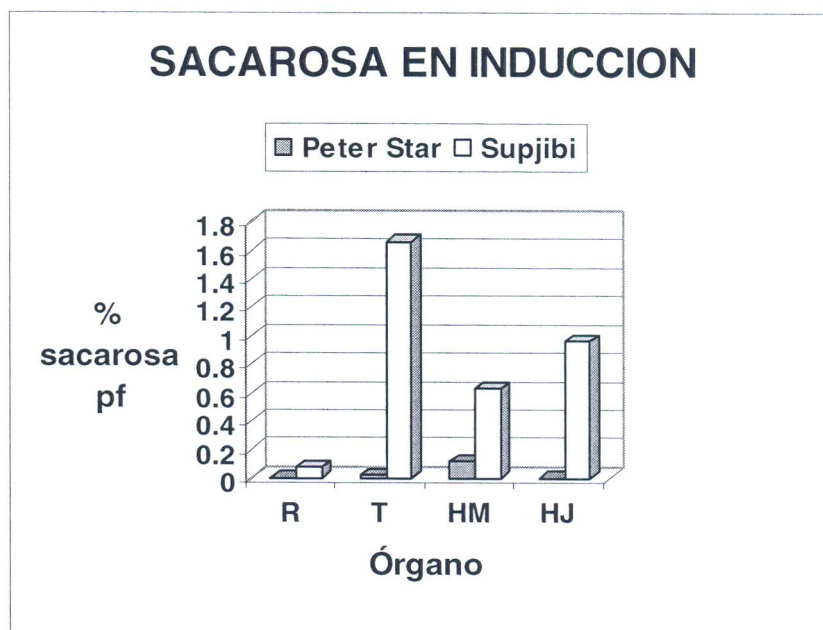


Figura 27. Contenido de sacarosa en los órganos de dos cultivares de nochebuena en el momento de la iniciación floral. pf = con base en peso fresco. R, raíz. T, tallo. HM, hojas maduras. HJ, hojas jóvenes.

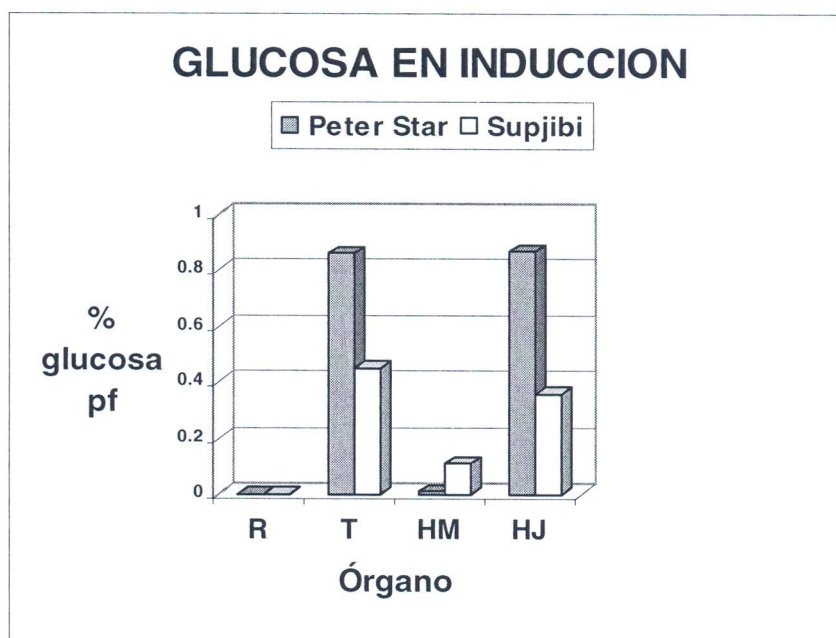


Figura 28. Contenido de glucosa en los órganos de dos cultivares de nochebuena en el momento de la iniciación floral. pf = con base en peso fresco. R, raíz. T, tallo. HM, hojas maduras. HJ, hojas jóvenes.

4.5. CONTENIDO DE ALMIDÓN

El producto esperado, después del procedimiento de hidrólisis del almidón es glucosa; sin embargo, cuando se hizo el análisis mediante cromatografía de líquidos se encontró fucosa (6-desoxi-galactosa), fructosa, galactosa, y una pequeña cantidad de glucosa (alrededor del 1 % con relación al total de azúcares). Por las cantidades de cada azúcar, el orden descendente fue el siguiente: para 'Supjibi' fucosa, fructosa, galactosa y glucosa; y para 'Peter Star' fructosa, galactosa, fucosa y glucosa.

En esta parte del trabajo se deben hacer algunas consideraciones. En primer lugar, se supone que ocurrió una interconversión de azúcares, debido a que el pH se ajustó a 8.0 con hidróxido de sodio; es probable que la presencia de un álcali haya propiciado la epimerización de la glucosa, la cual pudo transformarse en fructosa y otras hexosas (Shallenberger, 1982). En segundo lugar, no se tiene la seguridad de que el total de los azúcares encontrados después del procedimiento de hidrólisis, procedan exclusivamente del almidón; podrían estar presentes algunos oligosacáridos, y entrar en el proceso de desdoblamiento. Por último, se debe señalar que se sumaron las cantidades de fucosa, fructosa, galactosa y glucosa para reportar el total de azúcares en cada órgano; si todos los azúcares provinieran de almidón, la suma de éstos sería la estimación indirecta del contenido de almidón. Con el supuesto anterior, se hizo el análisis siguiente: En principio, se encontró almidón en todos los órganos de la planta. Por otro lado, la cantidad total de azúcares derivados de almidón tuvo una variación entre 2 % y 39 %, con base en material vegetal fresco. Específicamente 'Supjibi' tuvo entre 2 % y 32 %, y 'Peter Star' entre 2 % y 39 % (Figura 29); este promedio representa a los cuatro órganos de la planta.

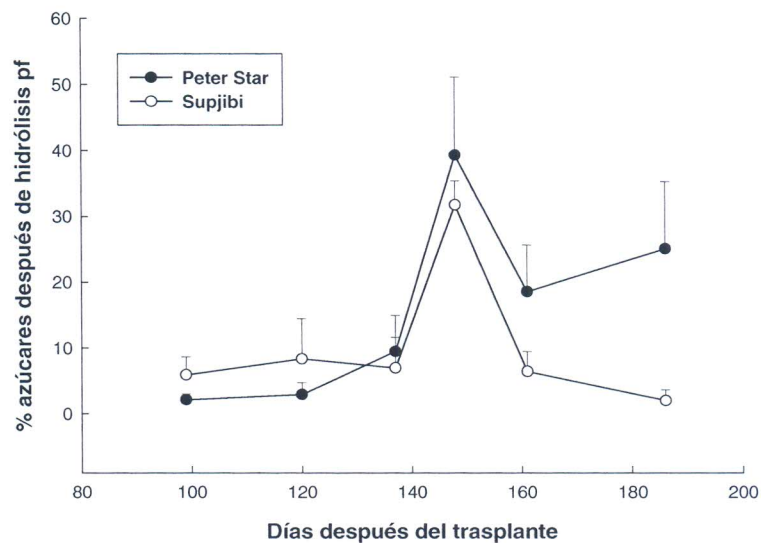


Figura 29. Contenido de azúcares derivados de almidón en dos cultivares de nochebuena. pf = con base en peso fresco. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

Al observar las Figuras 30 y 31 se aprecia que la tendencia del contenido de almidón es similar en ambos cultivares. Entre los 99 y 140 días después del trasplante (DDT) se tienen bajas cantidades de almidón en casi todos los órganos, se perfila un máximo alrededor de los 150 DDT, y más tarde hay una disminución entre los 160 y 186 DDT.

En los dos cultivares las etapas de desarrollo vegetativo e iniciación floral son etapas de baja acumulación de almidón. Los carbohidratos están siendo utilizados para el crecimiento y para los procesos bioquímicos de diferenciación. Después de la iniciación se registra un aumento en el área foliar y un crecimiento inicial de las brácteas; esta es una etapa de acumulación de almidón, porque hay una gran cantidad de hojas fotosintéticamente activas y una demanda pequeña. En la etapa de crecimiento de brácteas este almidón se desdobra y se utiliza en las zonas de demanda, el área foliar

se estabiliza y el área de las brácteas aumenta de manera importante. Cuando el área de las brácteas alcanza su máximo a los 186 DDT, la concentración de almidón es muy baja en raíz y hoja madura.

Es interesante observar la Figura 32, la cual muestra el comportamiento de la maltosa en las hojas de 'Peter Star'. La maltosa se deriva del desdoblamiento del almidón (Duffus y Duffus, 1984; Nelson y Cox, 2000); por lo tanto, la presencia de este disacárido es un indicador del desdoblamiento del almidón. La tendencia en las hojas maduras es especialmente clara: en la etapa vegetativa el almidón está siendo hidrolizado y utilizado para el crecimiento; lo mismo ocurre en las etapas de incremento en el área foliar y crecimiento de las brácteas, donde nuevamente se da una gran actividad metabólica que requiere de la hidrólisis del almidón para proveer la glucosa necesaria para la respiración y el crecimiento.

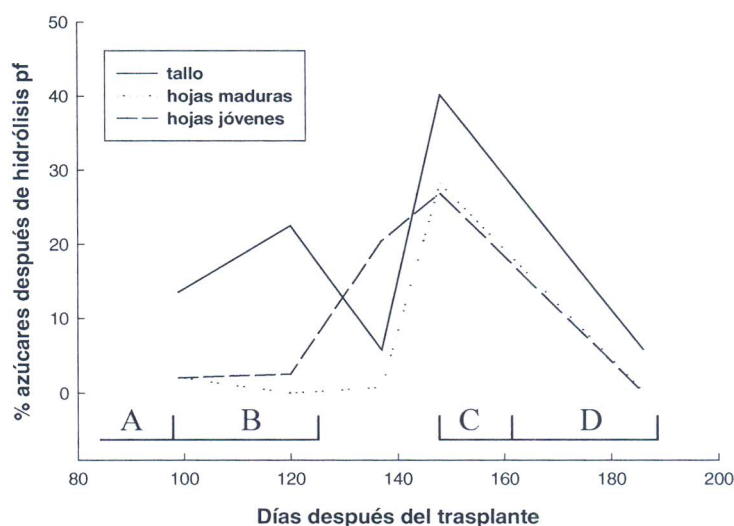


Figura 30. Contenido de azúcares derivados de almidón en los órganos del cultivar Supjibi de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas.

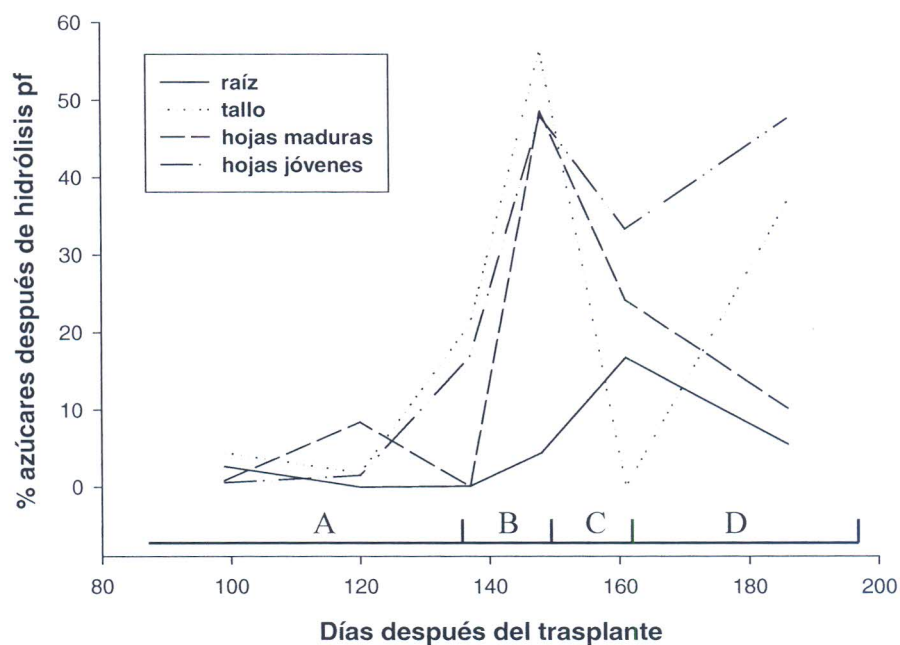


Figura 31. Contenido de azúcares derivados de almidón en los órganos del cultivar Peter Star de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas.

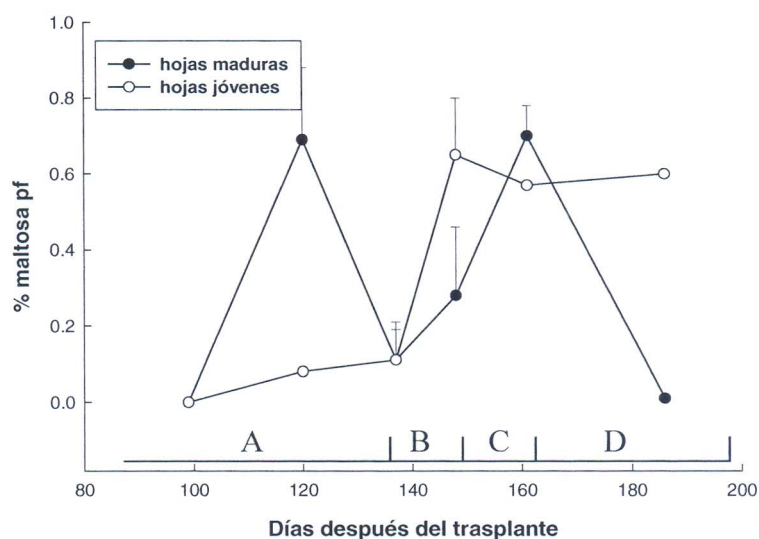


Figura 32. Contenido de maltosa en los órganos del cultivar Peter Star de nochebuena. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

Cuando se observa la ubicación del almidón en el momento de la iniciación floral (Figura 33) puede notarse que en la raíz y en las hojas maduras las cantidades de almidón son muy bajas, esto hace suponer que el almidón se desdobló y la glucosa derivada se movilizó en forma de sacarosa (glucosa y fructosa), poniendo así disponible la glucosa en el meristemo apical y en las hojas jóvenes. Este comportamiento es especialmente claro en el cultivar Peter Star.

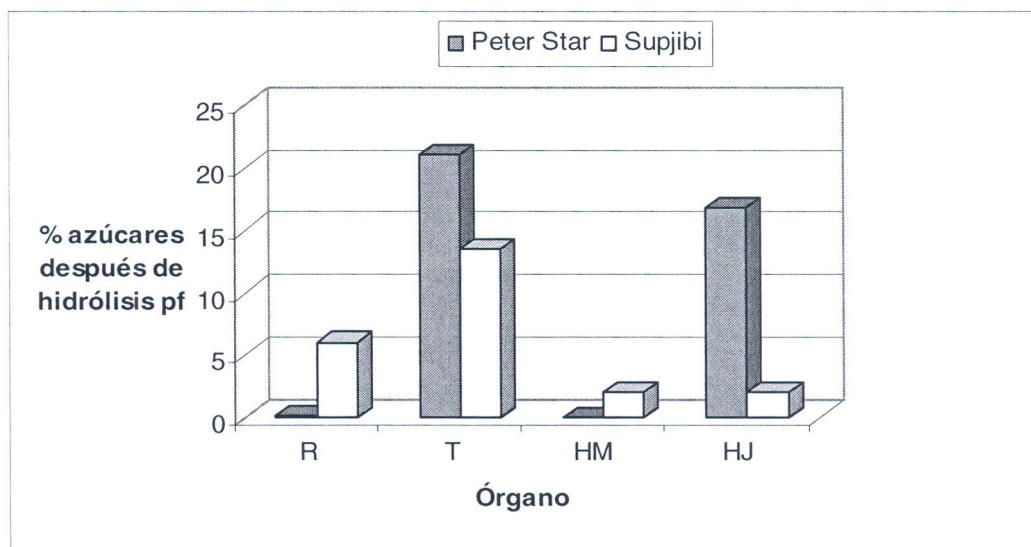


Figura 33. Contenido de azúcares derivados de almidón en los órganos de dos cultivares de nochebuena en el momento de la iniciación floral. pf = con base en peso fresco. R, raíz. T, tallo. HM, hojas maduras. HJ, hojas jóvenes.

4.6. RELACIONES ALMIDÓN-AZÚCARES Y SACAROSA-GLUCOSA

Es interesante establecer las relaciones entre el almidón y los azúcares que se derivan de él. Como la maltosa proviene de este polisacárido, podría esperarse un aumento en su concentración cuando la cantidad de almidón disminuye, y viceversa. En términos generales, esa tendencia se observó en las hojas del cultivar Supjibi (Figura 34); debe notarse, sin embargo, la diferencia en las cantidades: mientras que el almidón se encontró entre 0 % y 28 %, la maltosa estuvo entre 0 % y 1.5 %. La tendencia descrita se presentó tanto en las hojas maduras, como en las jóvenes.

Por su parte, la glucosa puede provenir del desdoblamiento del almidón, o puede ser el producto de reacciones de síntesis, o de transformación de otros azúcares (Nelson y Cox, 2000). En las hojas de 'Supjibi' se encontró un comportamiento opuesto entre la glucosa y el almidón; es decir, cuando el almidón aumentó, la glucosa disminuyó, y viceversa (Figura 35). El almidón tuvo un máximo de 28 %, y la glucosa de 1 %; si se considera la tendencia y no las cantidades, se puede inferir el proceso de síntesis de almidón utilizando como sustrato a la glucosa; así como el proceso de desdoblamiento de este polisacárido de reserva, generando glucosa como producto. Este comportamiento se presentó tanto en las hojas maduras, como en las jóvenes.

Por otro lado, la relación sacarosa-glucosa es importante porque una de las fuentes de glucosa es el desdoblamiento de la sacarosa (Nelson y Cox, 2000). En las hojas del cultivar Peter Star se encontró entre 0.1 % y 1.3 % de sacarosa, y entre 0 % y 0.6 % de glucosa. Lo interesante es que cuando la concentración de sacarosa disminuyó, la concentración de glucosa aumentó; esto es precisamente lo que sucedió en el momento de la iniciación floral (Figura 36).

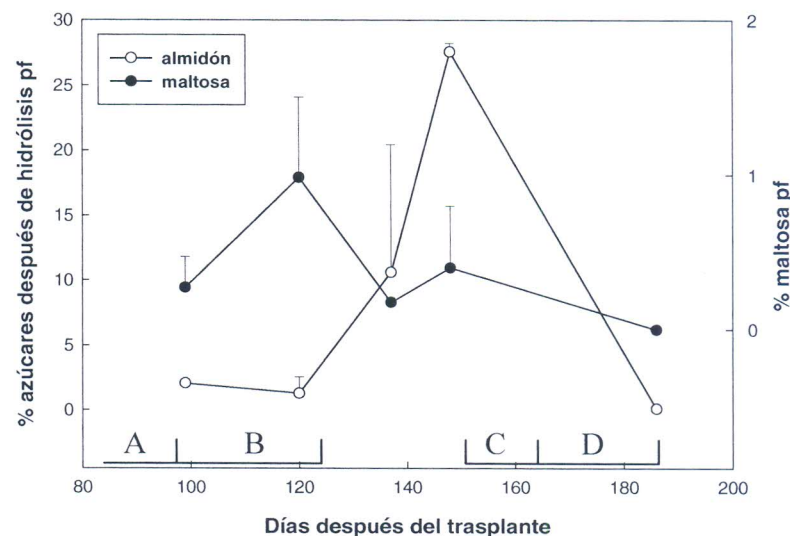


Figura 34. Contenido de almidón y maltosa en las hojas del cultivar Supjibi de nochebuena. Incluye hojas jóvenes y maduras. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

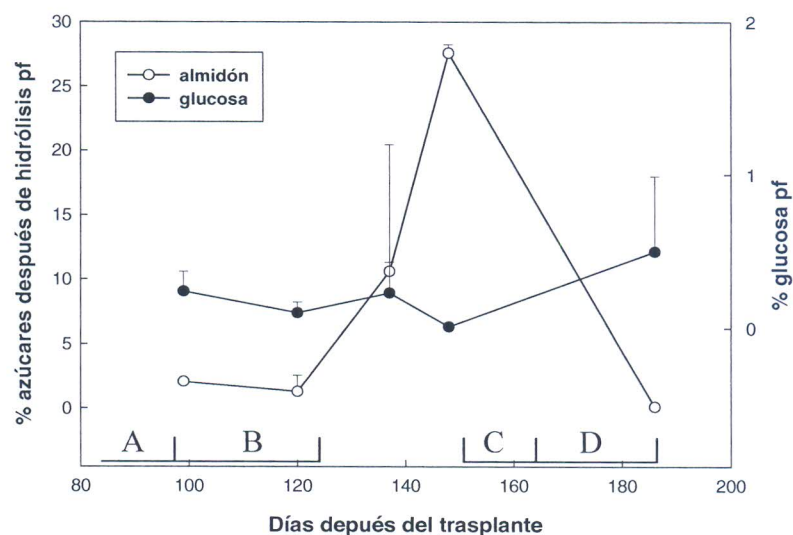


Figura 35. Contenido de almidón y glucosa en las hojas del cultivar Supjibi de nochebuena. Incluye hojas jóvenes y maduras. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

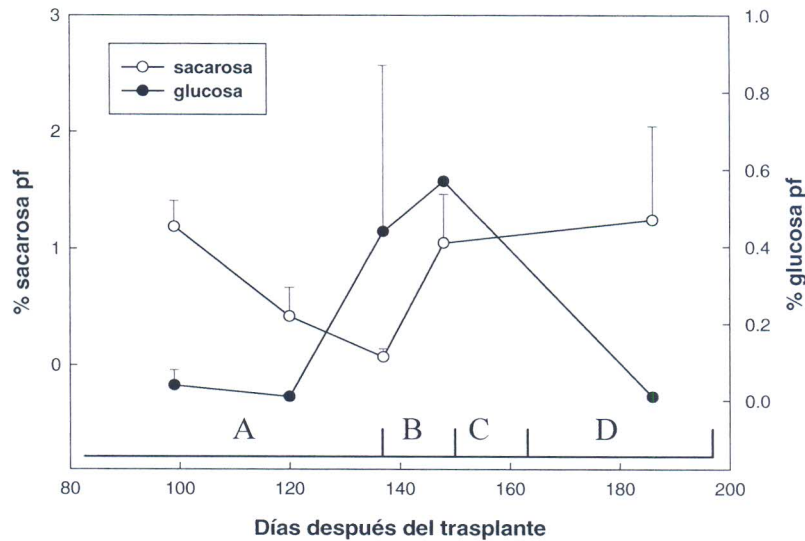


Figura 36. Contenido de sacarosa y glucosa en las hojas del cultivar Peter Star de nochebuena. Incluye hojas jóvenes y maduras. pf = con base en peso fresco. A, crecimiento vegetativo. B, desarrollo del ciatio primario. C, incremento del área foliar. D, crecimiento de brácteas. Las líneas verticales indican el 50 % del error estándar.

4.7. RESULTADOS DEL 2005

Todas las plantas completaron su ciclo de vida, sintetizaron antocianinas, tuvieron brácteas vistosas y llegaron a antesis; sin embargo, las plantas sujetas a fotoperíodo natural se atrasaron mucho respecto a las plantas con fotoperíodo corto artificial. Las fechas de cosecha fueron el 9 de diciembre para las plantas que se taparon y el 12 de febrero para las que no se taparon. Las fotografías de las Figuras 37 a 39 fueron tomadas 14 días antes de la cosecha de las plantas que se taparon. Las plantas que se sometieron a fotoperíodo corto artificial, independientemente de la fecha de trasplante, presentaron ciatio visible e inicios de coloración de brácteas el 15 de octubre del 2005.



Figura 37. Cultivar Supjibi, fecha de trasplante 24 de junio de 2005. Las plantas con brácteas se taparon con plástico negro, las otras no se taparon.



Figura 38. Cultivar Supjibi, fecha de trasplante 15 de julio de 2005. Las plantas con brácteas se taparon con plástico negro, las otras no se taparon.



Figura 39. Cultivar Supjibi, fecha de trasplante 1 de agosto de 2005. Las plantas con brácteas se taparon con plástico negro, las otras no se taparon.

La edad de los tres grupos de plantas cuando se registró el primer ciatio visible era 113, 92 y 75 días después del trasplante, dependiendo de la fecha de plantación. Es interesante que la presencia de días cortos hayan motivado en las plantas tapadas la inducción y el desarrollo de los órganos florales; tanto en las plantas altas y maduras, como en las bajas y más jóvenes. El grupo de plantas que se plantó el primero de agosto necesitó menos días para llegar a la etapa de primer ciatio visible. Grueber (1985) reporta un comportamiento similar cuando las plantas son despuntadas en diferentes fechas, él señala que las plantas que se despuntan tarde requieren un menor número de días cortos desde el despunte hasta la antesis. Todas las plantas sometidas a fotoperíodo corto artificial tenían brácteas sanas y vistosas; sin embargo, las que fueron plantadas el 15 de julio y el primero de agosto eran plantas más débiles, con raíces menos profundas y tallos más delgados.

Las plantas que no se taparon con plástico negro tuvieron un retraso de dos meses y medio. Independientemente de la fecha de trasplante, presentaron ciatio visible e inicios de coloración de bráctea el 2 de enero de 2006. La edad de los tres grupos de plantas en ese momento era 192, 171 y 154 días después de trasplante, dependiendo de la fecha de plantación. En este caso se cree que las bajas temperaturas, junto con días cortos de 11 a 12.1 horas, motivaron un crecimiento y un desarrollo muy lento. Grueber (1985) señala que la duración crítica del día es menor para el desarrollo floral que para la iniciación floral, menciona que con 12 horas de luz puede haber iniciación, pero el desarrollo floral es muy lento o puede ser inhibido. Esto explica que el cultivar Supjibi en 2004 haya tenido iniciación floral antes de tapar con plástico negro, y hace suponer que en las plantas no tapadas del 2005 también ocurrió la iniciación floral antes del 15 de septiembre, pero el desarrollo de los órganos florales fue muy lento.

Los resultados del 2005 confirman que los azúcares presentes en el cultivar Supjibi son fucosa, fructosa, glucosa, sacarosa, y maltosa; esta última sólo en hojas maduras y hojas jóvenes. Se confirma también que en la etapa de crecimiento de brácteas la sacarosa se transporta de la raíz y de las hojas maduras hacia las brácteas. En las plantas con brácteas no se encontró sacarosa en raíz ni en hojas maduras; mientras que en las plantas con hojas jóvenes aun verdes el contenido de sacarosa en raíz fue de 1.98 % y en hojas maduras de 2.29 %. Asimismo, en las plantas con brácteas se encontró sacarosa en el tallo, mientras que en las plantas sin brácteas no se encontró sacarosa en el tallo.

Mediante el experimento del 2005 se confirmó que los azúcares después del procedimiento de hidrólisis son fucosa, fructosa y galactosa. Por otro lado, las plantas sin brácteas tenían una mayor cantidad de almidón que las plantas con brácteas: en las plantas con hojas jóvenes verdes se encontró almidón en un rango de 0 % a 22 %, mientras que en las plantas con brácteas se encontró entre 0 % y 7 %. Se supone que en las plantas con brácteas el almidón se desdobló para poner disponible la glucosa en el área de demanda; una evidencia que confirma esta suposición es que el contenido promedio de almidón en las brácteas fue de 0.02 %, en tanto que en las hojas jóvenes de las plantas no tapadas fue de 10.4 %.

4.8. CONSIDERACIONES FINALES

En este trabajo se determinó el tipo de azúcares, las cantidades y la distribución en la planta de nochebuena. También se encontró una disminución de sacarosa en raíz y hojas maduras, y un aumento de glucosa en la parte apical de la planta durante la iniciación floral. Varios autores han postulado que los azúcares juegan un papel hormonal, y se ha propuesto también que intervienen para que ocurra la iniciación floral. Sería importante

continuar con esta línea de trabajo, proporcionar datos que reafirmen ese papel de los azúcares como mensajeros primarios; y si se confirmara su intervención, investigar cuál es el azúcar que da la señal para la iniciación floral. La secuencia de experimentos que se recomendaría sería la siguiente:

- Primer experimento: Determinación de azúcares en los órganos de plantas procedentes de cultivo de tejidos mediante cromatografía de líquidos.
- Segundo experimento: Adición de azúcares, en diferentes concentraciones, al medio de cultivo *in vitro* y evaluación de su efecto en la iniciación floral. En el laboratorio es importante manejar las plántulas con luz para prevenir la inducción, y posteriormente proporcionar los tratamientos de azúcares, junto con las condiciones de noche larga propicias para la inducción. Para conocer el momento de la iniciación floral es recomendable utilizar el microscopio electrónico y fotografiar en fresco, porque la elaboración de preparaciones permanentes es un proceso manual y tardado.

En relación a las determinaciones de almidón, los resultados de este experimento han proporcionado información sobre la forma en que la planta de nochebuena maneja sus reservas. Se considera que la metodología y los resultados son completamente válidos; sin embargo, se quiere dar una recomendación sobre el método para el desdoblamiento del almidón. En este experimento se realizó la hidrólisis mediante enzimas amilolíticas y ácido clorhídrico, y el resultado esperado era glucosa; sin embargo, se encontró y se cuantificó otro tipo de azúcares. La explicación, de acuerdo a Shallenberg (1982), es que ocurrió la transformación de azúcares llamada Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein: en presencia de un álcali los azúcares son fácilmente interconvertibles, en teoría cualquier hexosa puede originar otra hexosa bajo condiciones apropiadas; por otro lado,

este autor señala que la fructosa es una molécula estable a un pH de 3.3 y la glucosa a un pH de 4.0. En el laboratorio es muy común hacer la hidrólisis del almidón y determinar el contenido de glucosa mediante colorimetría, utilizando el espectrofotómetro y relacionando el color de la muestra con el color de soluciones con concentraciones conocidas de glucosa. Considerando que a un pH de 8.0 la glucosa sufriría una serie de cambios, se recomienda hacer las determinaciones a un pH de 4.0.

Por su parte, el experimento del 2005, además de dar información sobre el contenido de azúcares solubles y almidón, proporcionó datos muy interesantes en relación al comportamiento del cultivo en diferentes condiciones de fotoperíodo y temperatura. Si hubiera interés en continuar estos trabajos, la recomendación sería establecer un experimento similar al del 2005, pero con temperaturas controladas en el invernadero.

V. CONCLUSIONES

- La iniciación floral en 'Supjibi' ocurrió aproximadamente a los 99 días después del trasplante, y en 'Peter Star' a los 138 días después del trasplante; en ambos cultivares se dio por la madurez de la planta y por la presencia de días cortos naturales, y en 'Peter Star' porque además recibió veinte días de fotoperíodo corto artificial.
- Los monosacáridos y disacáridos presentes, durante todo el ciclo anual de las plantas de los dos cultivares fueron sacarosa, maltosa, glucosa y fructosa; maltosa se encontró sólo en hojas y brácteas, mientras que los otros azúcares se presentaron en toda la planta; la cantidad total estuvo entre 0.5 % y 2.9 %, con base en peso fresco.
- Para que ocurriera la iniciación floral se requirió la movilización de la sacarosa procedente de la raíz y las hojas maduras, y su posterior desdoblamiento a glucosa y fructosa.
- Los azúcares obtenidos, después de la hidrólisis del almidón contenido en las muestras de los diferentes órganos, fueron fucosa (6-desoxi-galactosa), fructosa, galactosa y glucosa, los cuales se encontraron en toda la planta y durante todo el ciclo de vida anual; la cantidad total estuvo entre 2 % y 39 %, con base en peso fresco.
- Cuando ocurrió la iniciación floral disminuyó la concentración de almidón en toda la planta, después de la iniciación se presentó la acumulación máxima, y en la etapa de crecimiento de brácteas hubo un bajo contenido como resultado de su desdoblamiento y utilización.
- Para que ocurriera el crecimiento y la coloración de las brácteas, se requirió el desdoblamiento y la movilización del almidón procedente de raíz y hojas maduras.
- Bajo las condiciones en que se desarrolló el experimento los cultivares Supjibi y Peter Star presentaron un ciclo anual de vida similar; sin embargo, 'Supjibi' mostró un crecimiento y desarrollo inicial más rápido que 'Peter Star'. Este último, en cambio, presentó un desarrollo reproductivo más rápido que 'Supjibi'. Las plantas del cultivar 'Supjibi' fueron altas, vigorosas, vistosas, y con un diámetro de flor comercial mayor que el de 'Peter Star'.
- En los dos cultivares de nochebuena estudiados fue necesaria la movilización de la sacarosa y del almidón, desde la raíz y las hojas maduras, para que ocurriera la iniciación floral. Para que se diera el crecimiento y la coloración de las brácteas también se requirió el desdoblamiento del almidón en la raíz y las hojas maduras, y su movilización hacia el área de demanda.

- Por el manejo de fotosintatos que la planta de nochebuena realiza, se concluye que las etapas críticas son la iniciación floral, el desarrollo del ciatio primario y el incremento en el área foliar; durante estas etapas el productor debe garantizar al cultivo los días cortos, la intensidad luminosa adecuada, fertilización, riego y sanidad.

VI. LITERATURA CITADA

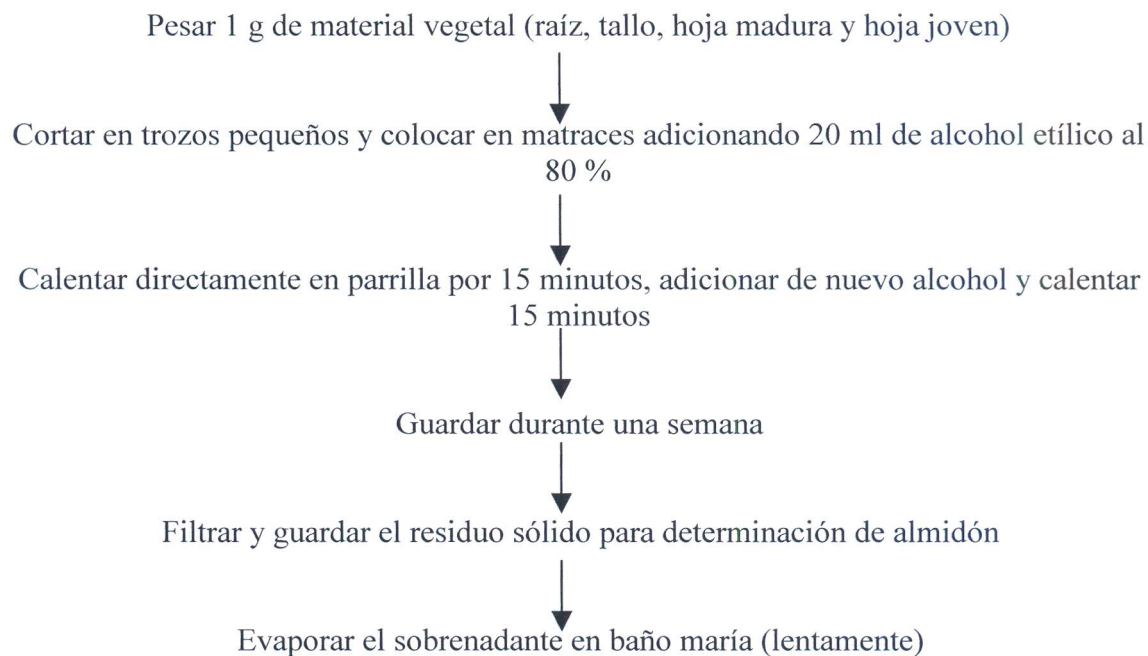
1. Archbold, D.D. 2003. Understanding floral induction and morphogenesis: An introduction to the Colloquium. HortScience 38(7): 1324.
2. Asen, S. 1958. Anthocyanins in bracts of *Euphorbia pulcherrima* as revealed by paper chromatographic and spectrophotometric methods. Plant Physiology 3(1): 14.
3. Avigad, G. and P.M., Dey. 1997. Carbohydrate metabolism: Storage carbohydrates, pp. 143-203. In: Plant Biochemistry. Dey, P.M. and J. B. Harborne (eds.). Academic Press. San Diego, California, USA.
4. Bailey, D.A. and W.B. Miller, 1991. Poinsettia developmental and postproduction responses to growth retardants and irradiance. Hortscience 26(12): 1501-1503.
5. Bailey, L.H. 1977. Manual of Cultivated Plants. Macmillan. New York, USA. pp. 616-618.
6. Duffus, C.M. and J.H. Duffus, 1984. Carbohydrate Metabolism in Plants. Longman. New York, USA. p. 97.
7. Durdan, S. F., R. J. Herbert, H. J. Rogers, and D. Francis. 2000. The determination time of the carpel whorl is differentially sensitive to carbohydrate supply in *Pharbitis nil*. Plant Physiol 123: 189-200.
8. Ecke, Jr., P., O.A. Matkin, , and D.E. Hartley. 1990. The Poinsettia Manual. Paul Ecke Poinsettias. California, USA. pp. 3-16.
9. Grueber, K.L. 1985. *Euphorbia pulcherrima*, pp. 448-495. In: Handbook of flowering. Vol. II. Halevy, A.H. (ed.). CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida, USA.
10. Lalonde, S., E. Boles, H. Hellmann, L. Barker, J.W. Patrick, W.B. Frommer, and J.M. Ward. 1999. Membrane structure and function. The dual function of sugar carriers: transport and sugar sensing. The Plant Cell 11: 707-726.

11. Meulenert, A. 2004. Estado del Tiempo, Temperatura y Pronóstico. *In: Diario Reforma*. Sección B. Días 15 y 30 de cada mes. México.
12. Myster, J. and R. Moe. 1995. Effect of diurnal temperature alternations on plant morphology in some greenhouse crops, a minireview. *Scientia Horticulturae* 62(4): 205-215.
13. Nelson, D.L. and M. M. Cox. 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Worth Publishers. New York. USA. pp. 304-305.
14. Ohto, M., K. Onai, Y. Furukawa, E. Aoki, T. Araki, and K. Nakamura. 2001. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 127: 252-261.
15. Ortega-Delgado, M. L. y Rodríguez-Coquiez, C. 1979. Estudio de carbohidratos en variedades mexicanas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. y *Phaseolus coccineus* L). *Agrociencia* 37: 33-49.
16. Rolland, F., B. Moore, and J. Sheen. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell* 14: 185-205.
17. SAGARPA. 2004. Subsistema de Información Agrícola. Base de datos del SIACON.
18. Schulman, A. H., P. Runeberg-Roos, and M. Jääskeläinen. 2000. Grain filling and starch synthesis in barley, pp. 147-168. *In: Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation*. Gupta, A. K. and N. Kaur (eds.). Elsevier. New York, USA.
19. Shallenberg, R.S. 1982. *Advanced Sugar Chemistry. Principles of Sugar Stereochemistry*. AVI. Westport, Connecticut, USA. pp. 207-220.
20. Singh, R. and S. Malohtra. 2000. Carbon fixation, sucrose synthesis and its transport to storage tissue, pp. 1-34. *In: Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation*. Gupta, A. K. and N. Kaur (eds.). Elsevier. New York, USA.

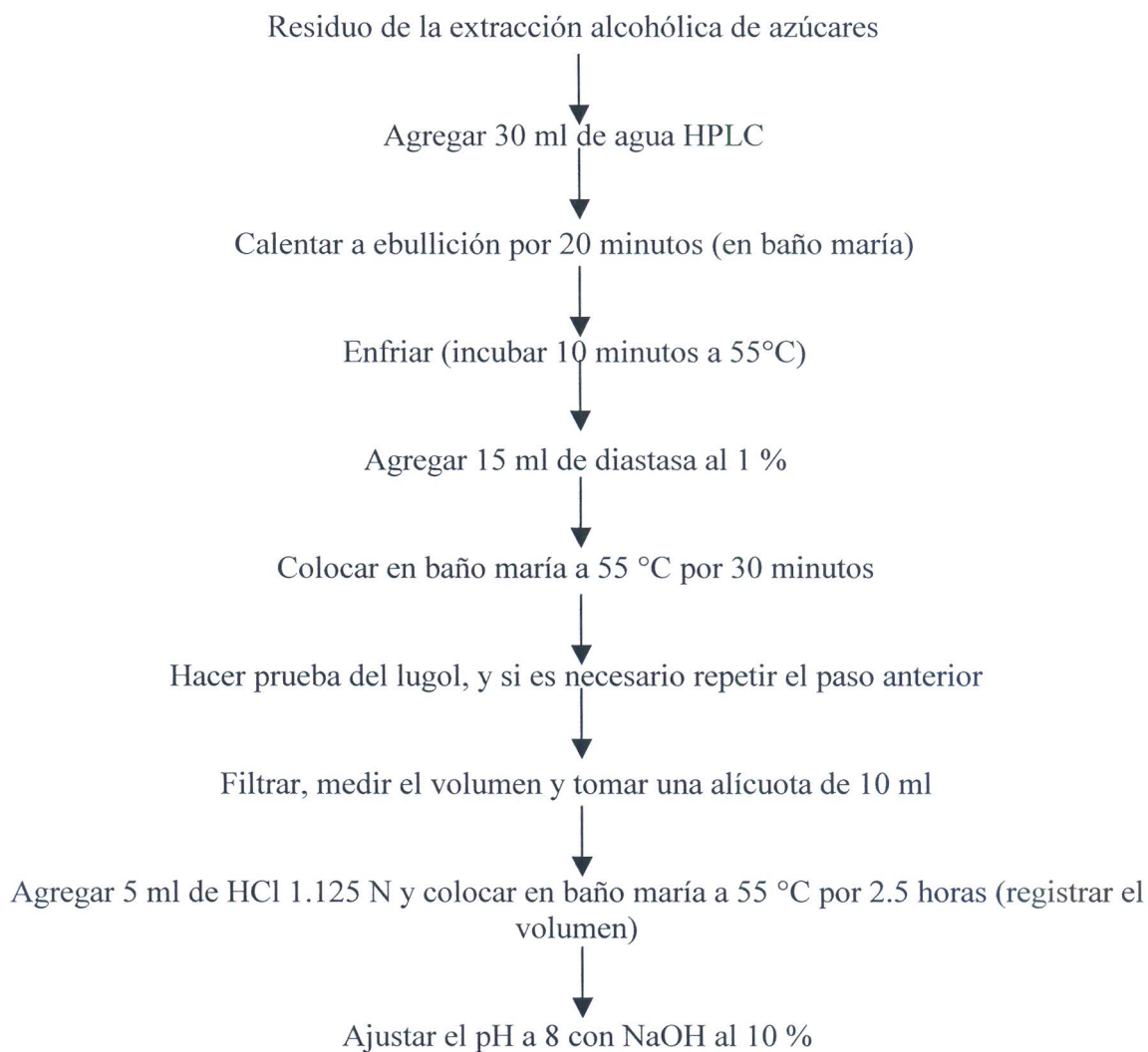
21. Singletary, G. W. 2000. Starch synthesis and grain filling in wheat, pp. 79-106. *In: Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation.* Gupta, A. K. and N. Kaur (eds.). Elsevier. New York, USA.
22. Spilatro, S.R. and P. G. Mahlberg. 1990. Characterization of starch grains in the nonarticulated laticifer of *Euphorbia pulcherrima* (poinsettia). *Amer. J. Bot.* 77(2): 153-158.
23. Struckmeyer, B.E. and G. E. Beck. 1960. Flower bud initiation and development in poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd). *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 75: 730-738.
24. Su, J. 2000. Starch synthesis and grain filling in rice, pp. 107-124. *In: Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation.* Gupta, A. K. and N. Kaur (eds.). Elsevier. New York, USA.
25. Sung, Z.R., J. Chen, Y. H. Moon and N. Yoshida. 2003. Molecular mechanism of shoot determinacy and flowering in Arabidopsis. *HortScience* 38(7): 1325-1327.
26. Venkata, R.C. 1971. Anatomy of the inflorescence of some Euphorbiaceae with a discussion on the phylogeny and evolution of the inflorescence including the cyathium. *Bot. Notiser* 124: 39-64.
27. Viola, R. 2000. Tuber filling and starch synthesis in potato, pp. 169-194. *In: Carbohydrate Reserves in Plants. Synthesis and Regulation.* Gupta, A. K. and N. Kaur (eds.). Elsevier. New York, USA.
28. Taiz L. and E. Zeiger. 1998. *Plant Physiology.* Sinauer. Massachusetts, USA. pp. 691-724.

VII. ANEXOS

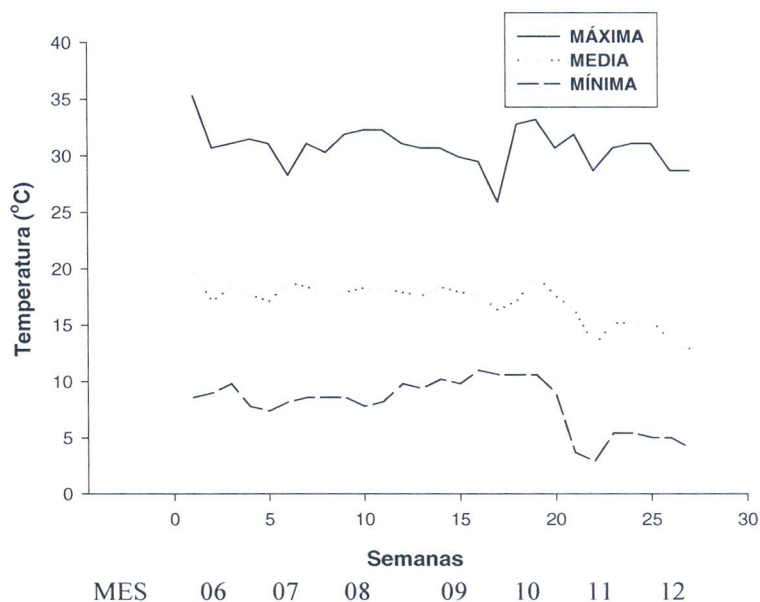
ANEXO 1. EXTRACCIÓN ALCOHÓLICA DE AZÚCARES SOLUBLES (Método de Ortega y Rodríguez, 1979)



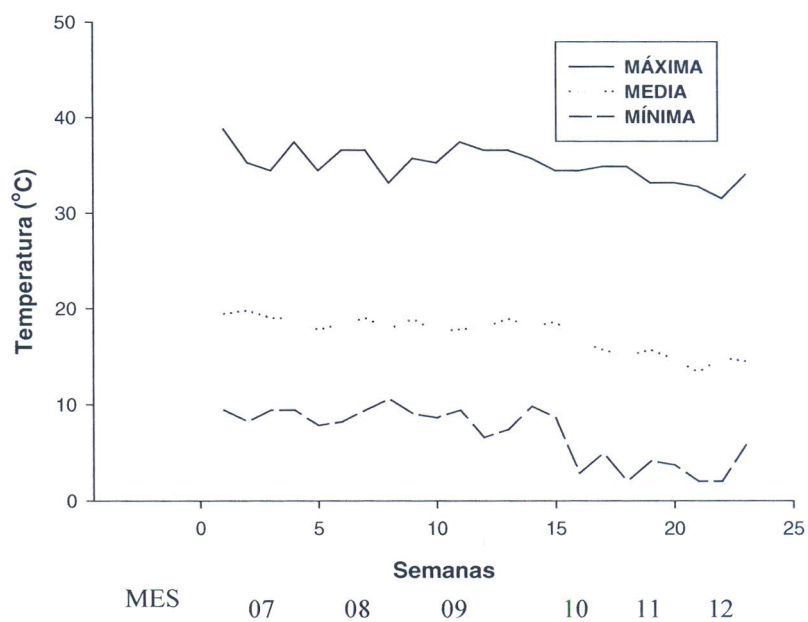
ANEXO 2. HIDRÓLISIS DE ALMIDÓN
(Método de Ortega y Rodríguez, 1979)



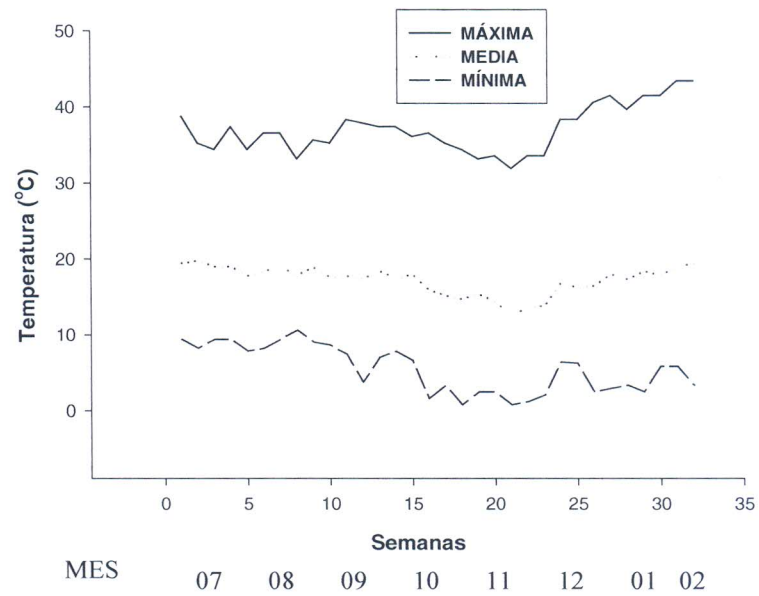
ANEXO 3. GRÁFICAS DE LAS TEMPERATURAS REGISTRADAS DURANTE LOS EXPERIMENTOS DEL 2004 Y 2005.



Gráfica 1. Temperaturas máximas, medias y mínimas registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2004.

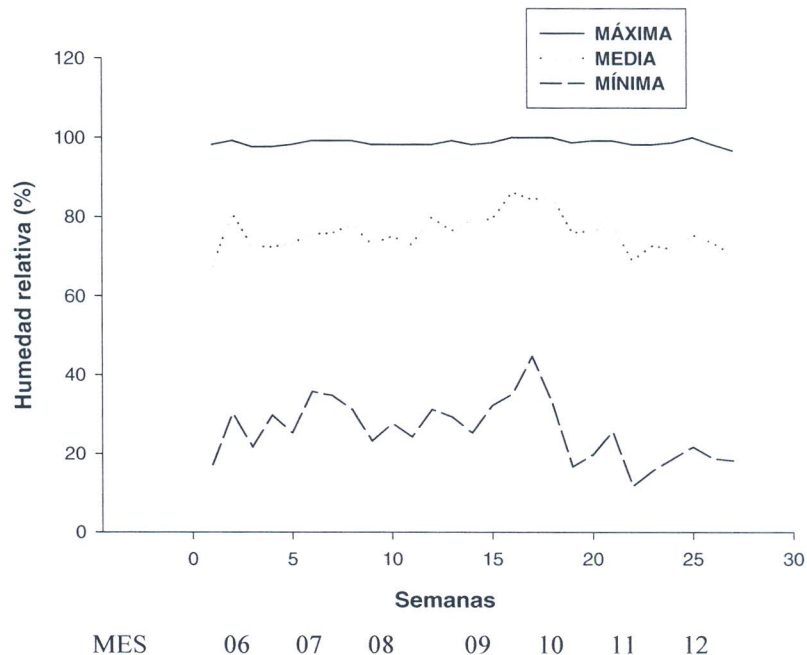


Gráfica 2. Temperaturas máximas, medias y mínimas registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2005, en la sección de plantas sometidas a fotoperíodo corto artificial.

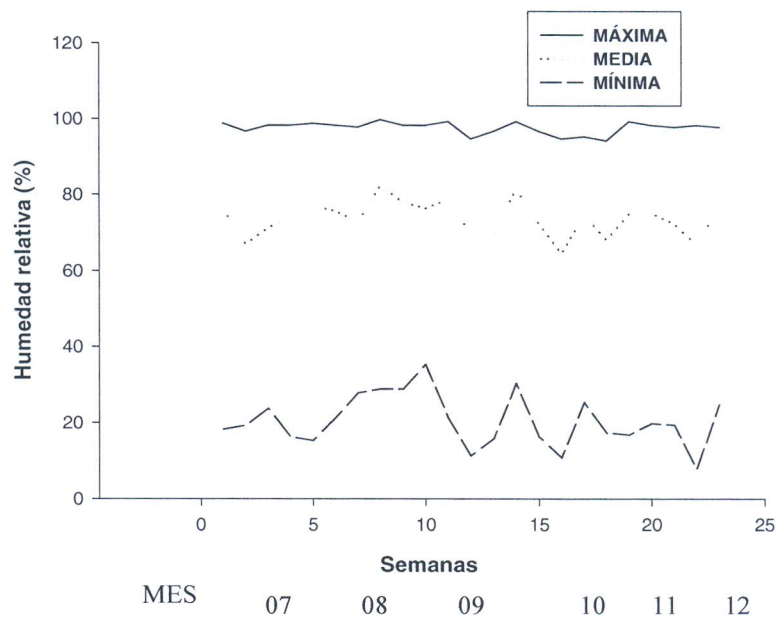


Gráfica 3. Temperaturas máximas, medias y mínimas registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2005, en la sección de plantas sometidas a fotoperíodo natural. Los meses de enero y febrero se tuvo calefacción.

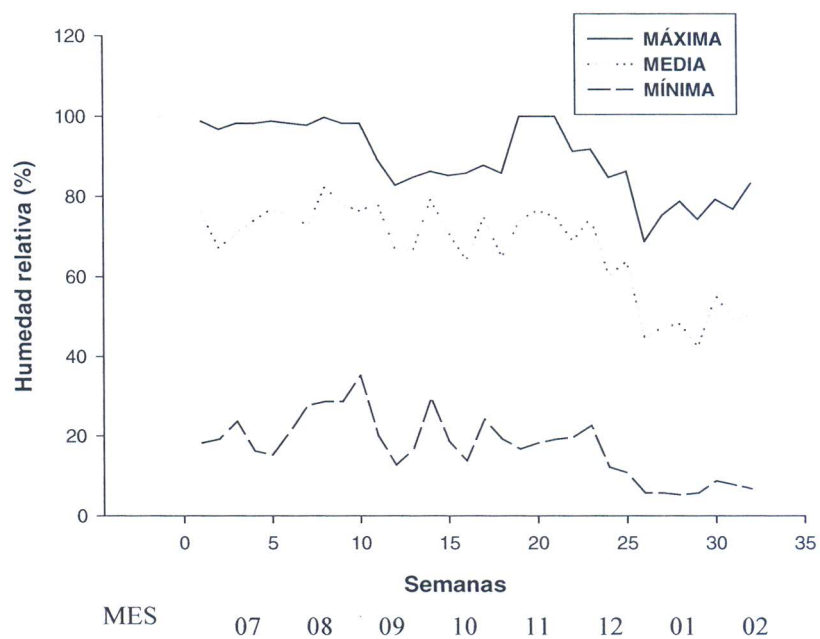
ANEXO 4. GRÁFICAS DE LA HUMEDAD RELATIVA REGISTRADA DURANTE LOS EXPERIMENTOS DEL 2004 Y 2005.



Gráfica 1. Humedad relativa máxima, media y mínima registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2004.

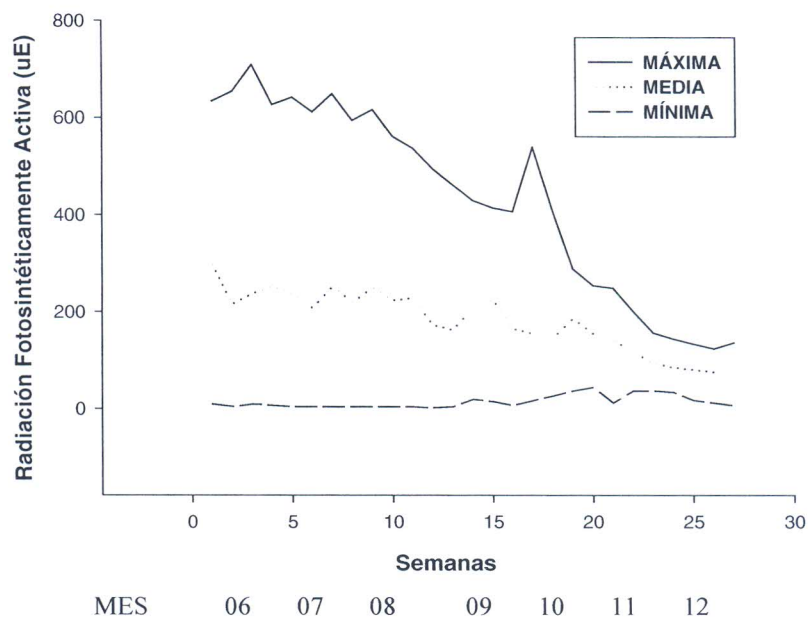


Gráfica 2. Humedad relativa máxima, media y mínima registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2005, en la sección de plantas sometidas a fotoperíodo corto artificial.

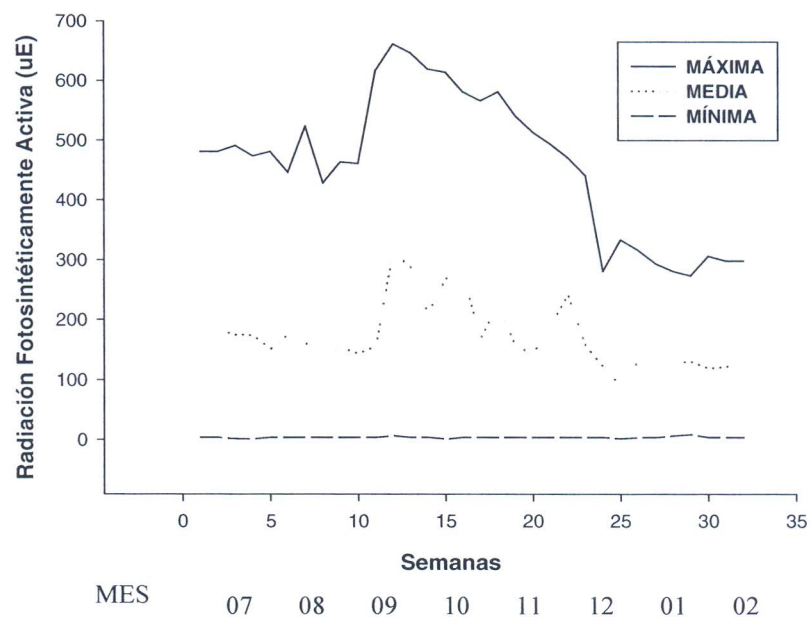


Gráfica 3. Humedad relativa máxima, media y mínima registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2005, en la sección de plantas sometidas a fotoperíodo natural.

ANEXO 5. GRÁFICAS DE LA RADIACIÓN FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVA REGISTRADA DURANTE LOS EXPERIMENTOS DEL 2004 Y 2005.



Gráfica 1. Radiación fotosintéticamente activa máxima, media y mínima registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2004.



Gráfica 2. Radiación fotosintéticamente activa máxima, media y mínima registradas en el microambiente del cultivo de nochebuena del experimento 2005, en la sección de plantas sometidas a fotoperíodo natural.