

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

CRECIMIENTO Y PIGMENTACIÓN EN NOCHEBUENA

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ALEJANDRO MANELIK GARCÍA LÓPEZ

Chapingo, Edo. de México. diciembre de 2004



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



CRECIMIENTO Y PIGMENTACIÓN EN NOCHEBUENA EN DOS LOCALIDADES

Tesis realizada por ALEJANDRO MANELIK GARCÍA LÓPEZ 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

DIRECTORA



Ph D. María Teresa Beryl Colinas León

ASESOR



Ph D. Jaime Sahagún Castellanos

ASESOR



Dr. Irán Alia Tejacal

DEDICATORIA

A **DIOS**, por permitirme continuar con las actividades que me he propuesto hasta este momento en mi vida.

A mi novia, **Karen** porque eres todas mis razones en la vida y lo más importante, te amo princesita.

A mis padres, **Raymundo y Sandra** por estar siempre ahí, haberme formado como persona y por su apoyo incondicional en todo momento.

A mis hermanos, **Yosafat y Citlali** por ser parte de mi vida y fuente de energía para llegar a las metas propuestas.

A mis **familiares** por el ánimo y apoyo que me dieron para realizar mis estudios de posgrado.

A mis **amigos y colegas** de la maestría generación 2003-2004, ya que sin ellos esta aventura hubiese sido un poco tediosa y aburrida.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, particularmente a todos y cada una de las personas que forma parte de la Maestría en Ciencias en Horticultura del Departamento de Fitotecnia.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, el cual mediante en este periodo cubrió con los gastos para llevar a cabo la culminación de mis estudios. Además de haber financiado el presente trabajo de tesis, el cual forma parte del proyecto "Temperatura y nutrición en la pigmentación de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd)" (clave 38340-B).

Al mí comité de tesis conformado por:

PhD. María Teresa Beryl Colinas León

PhD. Jaime Sahún Castellanos

Dr. Iran Alia Tejacal

Por su apoyo, tiempo, comprensión y experiencia para que esto culminara de manera satisfactoria.

A la familia **Ayala García**, por su cariño, hospitalidad y apoyo durante el periodo que realicé mis estudios.

Al **personal** que labora en el Laboratorio de usos múltiples del Departamento de Fitotecnia (Señor Cecilio y Tacho) y especialmente a **Luis Enrique Espinosa Torres** y **Emanuel Cruz Sanpedro** por su apoyo brindado.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor del presente trabajo, Licenciado en Ciencias Agropecuarias del área de Horticultura, es originario de Culiacán de Rosales, Sinaloa. Realizó estudios de Educación Media y Superior en la Universidad Autónoma de Sinaloa, donde cursó la carrera antes mencionada.

Una vez terminados sus estudios de licenciatura, fue aceptado para cursar la Maestría en Ciencias en Horticultura en el Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo.

CRECIMIENTO Y PIGMENTACIÓN EN NOCHEBUENA EN DOS

LOCALIDADES

GROWTH AND PIGMENTATION IN POINSETTIA IN TWO REGIONS

Alejandro Manelik **García-López**¹ y Ma. Teresa Beryl **Colinas-León**²

RESUMEN

Se evaluaron 3 cultivares de Nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Wild, ex. Klotzch): "Mármol", "Supjibi" y V-17 "Angelika" en 2 localidades contrastantes; Cuautla y Texcoco bajo condiciones de invernadero en macetas de 6". Se evaluó la concentración de antocianinas totales, carotenoides totales, clorofila total, clorofila a, clorofila b, relación clorofila a/b, peso específico, peso fresco, área foliar, fenoles totales y CHI, además el número de hojas y la altura; para determinar las diferencias entre las 2 localidades en estudio. Se encontró diferencias significativas en la concentración de antocianinas totales para los cultivares "Supjibi" contra el resto de los cultivares, donde la mayor concentración de estos pigmentos se encontró en la localidad de Cuautla. En cuanto a carotenoides totales y clorofila total se determinó diferencias significativas entre las localidades, siendo donde existió la mayor temperatura (Cuautla) la mayor concentración de estos pigmentos en los 3 cultivares en estudio. Referente a la concentración de clorofila a, clorofila b y la relación a/b se observó que en los 3 cultivares en estudio la localidad de Cuautla mostró la mayor concentración de estos.

ABSTRACT

"Marmol", "Supjibi" and V-17 "Angelika" poinsettia cultivars were evaluated under two different growing conditions, one of which was in Cuautla and the other one of which was in Texcoco under greenhouse conditions in 6" pots. The variables taken into consideration to evaluate differences between growing conditions were: total anthocyanins, carotenoids and chlorophyll content, chlorophyll a, b and a/b, fresh and specific weight, leaf area, phenolics, chalcone isomerase activity, stem length and leaf count. There were significant differences in total anthocyanin content for "Supjibi", as opposed to the other cultivars, and the plants grown in Cuautla had the higher content. The plants grown in Cuautla (which has the higher temperature) had a higher concentration of carotenoids and chlorophyll than the plants in Texcoco, independent of the cultivar. The three cultivars established in Cuautla had more concentration of chlorophyll a, b and a/b pigments. The "Supjibi" and V-17 "Angelika" cultivars had significant differences in specific weight in the two regions, since Texcoco had the higher variable values; "Marmol" cultivars did not show significant differences.

¹ Tesista

² Director

En los cultivares "Supjibi" y V-17 "Angelika" se encontraron diferencias significativas en cuanto a peso específico en las 2 localidades, siendo Texcoco donde se presentó el mayor valor; en los cultivares "Mármol" no se encontró diferencias significativas. En lo que respecta a área foliar, peso fresco, altura de planta, número de hojas y contenido de fenoles totales durante todo el experimento la localidad de Cuautla presentó los valores más altos. La actividad enzimática de la chalcona isomerasa (CHI) fue mayor en la localidad de Texcoco, principalmente en el cultivar "Supjibi".

Palabras clave: Pigmentos, desarrollo, fenoles, nochebuena, chalcona isomerasa.

Leaf area, fresh weight, stem length, leaf count and total phenolics were higher in this experiment in plants grown in the Cuautla region. Chalcone isomerase (CHI) activity was higher in the Texcoco region, principally in the "Supjibi" cultivar.

Key words: Pigments, growth, phenolics, poinsettia, chalcone isomerase.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DEL ANEXO.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Historia de la nochebuena.....	4
2.2 Desarrollo de cultivares.....	5
2.3 Requerimientos de la planta.....	7
2.3.1 Luz.....	7
2.3.2 Temperatura.....	8
2.3.3 Riego.....	9
2.3.4 Nutrición.....	10
2.4 Pigmentos.....	11
2.4.1 Clorofila.....	11
2.4.1.1 Clorofila a.....	13
2.4.1.2 Clorofila b.....	13
2.4.1.3 Biosíntesis de clorofila.....	14
2.4.1.4 Degradación de clorofila.....	15
2.4.1.5 Medidor portátil de clorofila SPAD.....	16
2.4.2 Carotenoides.....	18
2.4.2.1 Biosíntesis de carotenoides.....	19
2.4.2.1.1 Ruta del mevalonato a prenil pirofosfato.....	19
2.4.2.1.2 Ruta 1-deoxixilulosa-5-fosfato a prenil pirofosfatos.....	20
2.4.2.1.3 Formación e interconversión de los carotenoides.....	20
2.4.3 Antocianinas.....	21
2.5 Fenoles.....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1 Desarrollo de los experimentos.....	30

3.1.1 Material vegetal.....	30
3.1.2 Localización.....	30
3.1.3 Diseño de tratamientos.....	30
3.1.4 Transplante.....	31
3.1.5 Manejo del cultivo.....	31
3.1.6 Tapado de plantas.....	31
3.2 Variables evaluadas.....	32
3.2.1 Crecimiento de nochebuena en dos localidades contrastantes.....	32
3.2.1.1 Altura de planta.....	32
3.2.1.2 Número de hojas.....	32
3.2.1.3 Área foliar, peso fresco total de hojas.....	32
3.2.1.4 Peso específico de hojas.....	32
3.2.2 Cambios fisiológicos y bioquímicos en nochebuena desarrollada en dos localidades.....	33
3.2.2.1 Extracción y cuantificación de pigmentos.....	33
3.2.2.1.1 Clorofilas y Carotenoides totales.....	33
3.2.2.1.2 Lecturas SPAD.....	34
3.2.2.1.3 Actividad enzimática de CHI y fenoles totales.....	35
3.2.2.1.3.1 Fenoles totales.....	35
3.2.2.1.3.2 Actividad enzimática de chalcona isomerasa (CHI).....	35
3.2.2.1.4 Antocianinas totales.....	36
3.3 Diseño experimental.....	37
3.4 Análisis estadístico.....	37
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
4.1 Crecimiento de nochebuena en dos localidades contrastantes.....	38
4.1.1 Altura de planta.....	38
4.1.2 Número de hojas.....	39
4.1.3 Área foliar.....	40
4.1.4 Peso fresco de hojas.....	42
4.1.5 Peso específico de hojas.....	43

4.2 Cambios fisiológicos y bioquímicos en nochebuena desarrollada en dos localidades.....	45
4.2.1 Clorofila a.....	45
4.2.2 Clorofila b.....	47
4.2.3 Relación clorofila a/b.....	49
4.2.4 Clorofila total.....	51
4.2.5 Carotenoides totales.....	53
4.2.6 Fenoles totales.....	55
4.2.7 Actividad enzimática de CHI.....	57
4.2.8 Antocianinas totales.....	59
V. CONCLUSIONES.....	62
VI. LITERATURA CITADA.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Reacción catalizada por CHI y arquitectura del sitio activo.....	25
Figura 2. Altura en los cultivares estudiados en dos localidades contrastantes.....	38
Figura 3. Número de hojas en los cultivares estudiados en dos localidades contrastantes.....	40
Figura 4. Área foliar de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	41
Figura 5. Peso fresco de hojas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	42
Figura 6. Peso específico de las hojas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	44
Figura 7. Contenido de clorofila a de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	46
Figura 8. Contenido de clorofila b de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	48
Figura 9. Proporción de clorofila a/b de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	50
Figura 10. Clorofila total de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	52
Figura 11. Contenido de carotenoides totales de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	54
Figura 12. Cambios en fenoles totales de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	56
Figura 13. Actividad enzimática de la Chalcona isomerasa (CHI) de cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	58
Figura 14. Contenido de antocianinas totales de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.....	60

ÍNDICE DEL ANEXO

	Página
Cuadro 1A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Cuautla en plantas del cultivar "Mármol"	77
Cuadro 2A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Cuautla en plantas del cultivar "Supjibi"	77
Cuadro 3A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Cuautla en plantas del cultivar V-17 "Angelika"	77
Cuadro 4A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Texcoco en plantas del cultivar "Mármol"	78
Cuadro 5A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Texcoco en plantas del cultivar "Supjibi"	78
Cuadro 6A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Texcoco en plantas del cultivar V-17 "Angelika"	78

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad una de las especies con mayor importancia ornamental que se cultiva bajo condiciones de invernadero es la nochebuena o poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzch). En los Estados Unidos de Norteamérica el cultivo de esta especie es el tercero en importancia en la producción de ornamentales. Datos estadísticos del Departamento de Agricultura de este país (USDA) del año 2000 muestran que la producción de la nochebuena tuvo un valor de \$237, 328,000 dólares (Anónimo, <http://usda.mannlib.cornell.edu/reports/nassr/other/zfcbb/flor0400.txt>).

Para México la nochebuena es una de las plantas de producción en maceta más importantes. Esto se debe a su alta demanda en épocas decembrinas y por constituir una fuente de trabajo, ya que su cultivo requiere mucha mano de obra, tanto en producción de plantas madre y esquejes, como en la producción de las plantas con flores. Las principales zonas productoras de nochebuena de México están en Morelos y Xochimilco, aunque recientemente se inició su cultivo en Guerrero, Colima, Michoacán, Jalisco y Estado de México (Martínez, 1995).

No existen estadísticas de la producción de esta planta con base en registros oficiales, sin embargo, algunos viveros como PLANTEC cuentan con información. PLANTEC es la principal empresa que genera plantas madre y esquejes que son distribuidos a propagadores autorizados, los que a su vez venden a la mayoría de los productores. De acuerdo con esta empresa, en 1980 se produjeron 2 millones y para el año 2000 se estima que fueron 8.5 millones de plantas, en sus diferentes presentaciones, lo que indica que la demanda va en constante aumento, aunque para el 2002 la producción

alcanzó un millón 400 mil plantas y las ventas superaron los 25 millones de pesos (SEDAGRO, 2002).

Por la demanda estacional de esta planta, es muy importante que se comercialice a tiempo, esto es aproximadamente a principios de noviembre, lo cual implica un buen manejo del cultivo en forma intensiva. Sin embargo, la mayoría de los productores y en especial los que recién se inician en su producción, desconocen los factores que influyen en el proceso de inducción a floración y posterior pigmentación de las brácteas para evitar retrasos en la programación y obtener plantas de calidad. Lo común es que los productores manejen su cultivo con base en lineamientos generales de algunos manuales (Carmichael, 1990; Ecke *et al.*, 1990), independientemente del cultivar y las condiciones ambientales particulares del lugar de producción.

En México, los trabajos de investigación que se han hecho al respecto son aislados y escasos como el estudio del efecto de la intensidad de luz en la calidad de nochebuena (Galicía, 2000), mezclas de sustratos y componentes de la flor de nochebuena (Martínez, 1996), número de noches largas necesarias para inducir floración y pigmentación en nochebuena (Villegas, 1998), entre otros. En la medida que se genere información en forma integrada se podrá asesorar mejor a los productores. Con base en lo anterior en el presente trabajo se planteó el siguiente **objetivo:**

OBJETIVO

Evaluar tres cultivares de nochebuena en dos localidades con características contrastantes de luz, temperatura y humedad relativa, para estudiar sus efectos en cuanto a crecimiento, desarrollo, y algunos cambios bioquímicos involucrados en el proceso de pigmentación.

HIPÓTESIS

Las características contrastantes de luz, temperatura y humedad relativa de las localidades influirán en el crecimiento y desarrollo, así como en los aspectos bioquímicos involucrados en el proceso de pigmentación de los cultivares en estudio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

La nochebuena es un miembro de la familia Euphorbiaceae. El género *Euphorbia* contiene aproximadamente de 700 a 1000 especies. Éstas se caracterizan por presentar una sola flor femenina sin pétalos y generalmente sin sépalos, rodeada por flores masculinas individuales. Estas pequeñas flores están encerradas en una estructura en forma de copa denominada ciatio. Las estructuras vistosas de la nochebuena son sus hojas modificadas o brácteas (Shanks, 1980). Éstas pueden ser rojas, rosas, blancas o veteadas, pero como son parecidas a hojas en vez de ser verdaderos pétalos, tienen un promedio de vida muy largo (Shanks, 1980). Las brácteas contienen resinas, pigmentos flavonoides, goma, almidón, glucosa, sacarosa, sales, aceites esenciales, ácido tartárico, ácido gálico y otros componentes (Quintáñar, 1961).

2.1 Historia de la nochebuena

La nochebuena es una planta nativa de México y se ha señalado la región de Taxco, Guerrero, como su lugar de origen. Los aztecas le dieron el nombre de “Cuetlaxochitl” que en náhuatl significa “flor de piel”. Desde fines del siglo XIX se ha cultivado extensivamente para su venta en la época de navidad. El nombre de poinsettia se debe a que Joel Robert Poinsett fue quien introdujo esta especie a la Unión Americana, poco después de asumir el cargo de primer Embajador de los Estados Unidos en México en 1825 (Shanks, 1980).

Las poinsettias fueron utilizadas por los padres franciscanos que se establecieron en las cercanías de Taxco, durante el siglo XVII en una procesión de navidad conocida como la Fiesta del Santo Pesebre (Ecke *et al.*, 1990).

2.2 Desarrollo de cultivares

A principios de este siglo los cultivares utilizados para la producción en maceta fueron principalmente hechos por la empresa Ecke a partir de plantas encontradas al aire libre en el sur de California y que eran formas silvestres con la tendencia a la abscisión de hojas bajo condiciones de estrés. La era moderna del cultivo de la nochebuena se inició con la introducción del cultivar Oak Leaf que poseía la característica de retener sus hojas hasta su venta en la época de navidad. A partir de 1950 se iniciaron los programas de mejoramiento en varias instituciones, incluyendo la Universidad de Pennsylvania, la Universidad de Maryland, el Centro de Investigación de la USDA en Beltsville. También varias empresas participaron, como la Azalealand en Nebraska, el Rancho Paul Ecke en California, Zieger Brothers en Alemania y Thormod Hegg & Son en Noruega (Ecke *et al.*, 1990).

Los cultivares de nochebuena más comúnmente vendidos en Norteamérica y Europa son de las siguientes series:

- 1) Serie Annette Hegg
- 2) Serie Ball Seed
- 3) Serie Eckspoint Celebrate
- 4) Serie Fisher Pelfi Star
- 5) Serie Mikkelsens Mikkell
- 6) Serie Oglevee Brightpoints
- 7) Serie Gutbier

En México, los cultivares ‘Supjibi’ y ‘Freedom’ son los que se cultivan con mayor frecuencia, por sus características y la demanda de los consumidores. (Martínez, 1995).

El cultivar “Supjibi” se ubica dentro de la serie Fisher Pelfi Star de la línea Gross (Alemania). Disponible en colores rojo y rosa. Sus brácteas son las más grandes y tienen un color rojo brillante. El follaje es verde intermedio y no se cae fácilmente. Tolera bien temperaturas extremas. Tiene un hábito de crecimiento mediano, con tallos y brotes sumamente vigorosos. Sus brácteas se dañan fácilmente en el transporte. Adecuada para todos los tamaños de macetas. No es susceptible de presentar epinastía. Se deben eliminar todas las hojas inmaduras al momento de la poda (Martínez, 1995).

El cultivar “Freedom” pertenece a la línea Eckespoint (USA). Introducida en 1993. Disponible en colores rojo, rosa y blanco. Sus brácteas tienen un color brillante y su follaje es verde oscuro. Se caracteriza por ser una planta compacta que da muchos brotes. Sin embargo, su principal característica es que florea muy temprano, y no depende de las noches largas para la inducción a floración. Tolera bien el transporte y enmangado. Le afectan temperaturas demasiado elevadas. En ciertas situaciones puede tirar prematuramente las flores verdaderas (Martínez, 1995).

Los cultivares “Mármol” y V17 “Angelika” son parte de la serie Gutbier. Disponible en colores blanco, rosa, rojo y “veteado”. Se caracterizan por ser plantas de porte alto y con un gran número de hojas. La fecha de iniciación floral de estos cultivares se presenta a partir del 25 de septiembre. Presentan susceptibilidad al ataque de

Botrytis. Tolera bien el transporte. Le afectan las temperaturas extremas (Ecke *et al.*, 1990).

2.3 Requerimientos de la planta

2.3.1 Luz

En el desarrollo de las plantas de nochebuena la luz (intensidad, calidad y duración) tiene mucha importancia. La intensidad juega un papel muy importante en el color de las hojas y flor, el crecimiento del tallo, pigmentación y la retención del follaje (Galicia, 2000). La calidad de luz afecta la longitud de entrenudos y la síntesis de antocianinas (pigmentos flavonoides) (Pérez y Martínez, 1994). En cuanto a la duración de la luz, las nochebuenas son sensibles al fotoperiodo, induciéndose la floración cuando el periodo de oscuridad es de por lo menos 12.5 horas continuas (Kristoffersen, 1968; Witaszek and Mynett, 1989; Martínez, 1995).

En condiciones naturales, un periodo oscuro de 12 horas o más ocurre desde el 5 de octubre hasta el 10 de marzo en el hemisferio norte, en México esto ocurre a partir de los 20° de latitud norte. En los lugares donde no se dan estas condiciones, se tiene que utilizar el tapado artificial de las plantas con plástico negro desde el atardecer hasta el amanecer. Sin embargo, la fecha real de iniciación floral en el otoño es modificada por la edad del brote que presenta la iniciación. Los extremos de los brotes más viejos aparentemente tienen más estímulos naturales de floración y pueden iniciar flores hasta 10 días antes (25 de septiembre) mientras que las plantas de reciente propagación o despuntadas también se retrasan en su iniciación (Shanks, 1980).

En un estudio realizado con nochebuena se encontró que entre la cuarta y la quinta semana de exposición de las plantas a fotoperiodo corto, las hojas más jóvenes empiezan a sintetizar y acumular las antocianinas, tornándose rojas y posteriormente el meristemo apical se diferencia en primordio floral (Kannangara y Hansson, 1998).

2.3.2 Temperatura

En cuanto a la temperatura ideal para el cultivo de la nochebuena, hay variaciones de acuerdo al cultivar y la etapa de desarrollo en la que se encuentre la planta. Para el desarrollo vegetativo las temperaturas óptimas andan alrededor de 15 a 20°C en la noche y 24 a 35°C en el día. Mientras que en la etapa de floración se recomiendan de 15 a 18°C en la noche y de 18 a 25°C en el día (Carmichael, 1990). Por lo tanto, mediante una manipulación adecuada de la temperatura es posible controlar al mismo tiempo, la altura de la planta y la velocidad de desarrollo de flores (Ball, 1991).

Temperaturas menores a 16°C durante el proceso de floración, provocan atraso de ésta y las flores son pequeñas, además se corre el riesgo de presentar enfermedades en follaje y brácteas. Sin embargo, los cultivares de floración temprana pueden mantenerse en el invernadero a una temperatura nocturna mínima de 10°C hasta su venta, sin reducción en calidad, siempre y cuando se mantenga una humedad relativa baja (Ball, 1991).

Temperaturas nocturnas mayores a 20°C durante la etapa de floración, provocan retraso en el proceso, se abren los centros, se alargan las plantas y el color de las brácteas es muy pálido. Esto se puede contrarrestar con un periodo de oscuridad de alrededor de 14 a 15 horas (Martínez, 1995).

Actualmente la altura de las plantas de nochebuena se puede controlar mediante el DIF que es el diferencial entre la temperatura del día y la temperatura nocturna. El cambio de un DIF positivo hacia un DIF cero produce una enorme reducción en la altura de las plantas. Aunque la altura sigue disminuyendo con el cambio de un DIF cero hacia un DIF negativo, el efecto es de menor magnitud (Holcomb *et al.*, 1996). Así, un cultivo sometido a una temperatura máxima de 28°C y mínima de 14°C (promedio = 21 y DIF = 14) tendrá el mismo desarrollo y tiempo a floración que un cultivo sometido a una temperatura máxima de 23°C y mínima de 19°C (promedio = 21 y DIF = 4), pero la altura será menor (Martínez, 1995).

Algunos autores mencionan que las nochebuenas son sensibles al daño por frío, por lo tanto no se deben exponer a temperaturas por debajo de los 10°C. Temperaturas frescas pueden causar que las brácteas se tornen a tonalidades púrpuras o blancas y el látex puede exudar de los tallos debido al daño causado a las células (Nell and Barrett, 1986).

2.3.3 Riego

Las plantas de nochebuena requieren altas humedades relativas y riegos moderados durante su crecimiento (Nowak and Rudnicki, 1990). Un exceso de agua puede dañar al sistema radical. Se recomienda que los riegos deben realizarse por la mañana para así evitar que la planta este húmeda en la noche, que es para cuando se desarrollan hongos que atacan al follaje (Rodríguez *et al.*, 2000).

La calidad del agua también es muy importante, y al respecto se señala que el agua debe tener un pH entre 6 y 8, baja salinidad o sea menos de 800×10^4 de

conductividad eléctrica (Ecke *et al.*, 1990; Rodríguez *et al.*, 2000). Martínez (1995) menciona que la conductividad eléctrica debe estar entre 1.5 y 2.5 mmhos cm^{-1} y no ser mayor de 3.5 mmhos cm^{-1} .

La falta de agua ocasiona retraso en la fotosíntesis, lo que afecta el crecimiento. La elongación de las células jóvenes se reduce, dando como resultado hojas pequeñas y entrenudos cortos. El exceso de agua trae como consecuencia alargamiento de los brotes y un crecimiento débil y reducido debido al alto contenido de agua (Martínez, 1995).

2.3.4 Nutrición

En la determinación de las dosis óptimas de fertilización y del tipo de fertilizante a utilizar intervienen algunos factores tales como la calidad del agua de riego, las características del sustrato, el estado vegetativo de la planta, el clima, el tipo de fertilizante, la técnica de cultivo y el objetivo de la fertilización (Martínez, 1995).

Con relación a la nutrición se ha mencionado que la nochebuena requiere de 200 a 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de N y K; 50 a 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de P; de 80-120 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Ca; 40 a 60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Mg y de 0.1 a 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Mo en cada riego; si se fertiliza de manera intermitente, la dosis requerida es el doble (Martínez, 1995).

Ecke *et al.* (1990) recomiendan alrededor de 250 mg de nitrógeno $\cdot\text{L}^{-1}$ para nochebuenas con riego constante. Shuch *et al.* (1995) evaluaron la respuesta de seis variedades de nochebuena a tres niveles de fertilización de nitrógeno y dos regímenes de riego, encontrando que se obtenían plantas aceptables con 160 mg de

nitrógeno $\cdot L^{-1}$ aplicado en forma continua con un volumen de riego de 240 mL cada tercer día.

Con relación a otros nutrimentos, Villegas (1998) reporta que es recomendable aplicar al suelo junto con los nutrimentos antes mencionados, los siguientes; Cu, Zn, B y Mn en concentraciones de 0.5 a 1.0 $mg \cdot L^{-1}$ y Mo 0.04 $mg \cdot L^{-1}$, cada cuatro u ocho días. También se pueden hacer aspersiones foliares de estos elementos.

Ayala (2004) menciona que la aplicación foliar de Ca (300, 400 y 500 $mg L^{-1}$) y B (0.2, 0.5 y 0.8 $mg L^{-1}$) por separado y en combinación (400 $mg L^{-1}$ + 0.5 $mg L^{-1}$) favorecieron el crecimiento vegetativo y reproductivo de la planta de nochebuena cv. "Supjibi".- Además que la combinación de Ca + B favoreció el contenido de clorofilas, carotenoides y antocianinas totales.

2.4 Pigmentos

2.4.1 Clorofila

Las clorofilas son porfirinas, es decir, están constituidas por un anillo tetrapirrólico formado por cuatro pirroles asociados en posición α . En estas moléculas, los dobles enlaces se presentan prácticamente conjugados, de donde su entidad como pigmentos. En las posiciones β , las porfirinas poseen diversos sustituyentes según su naturaleza y en el centro presentan un átomo de metálico con distinto grado de coordinación. La asociación de los cuatro pirroles se verifica por grupos metínicos ($-CH=$). Las porfirinas fisiológicas suelen poseer el pirrol IV (D) invertido, aunque existen formas sin esta inversión, generalmente patológicas (Gil-Martínez, 1995).

Las clorofilas son insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Se pueden distinguir diversos tipos (*a*, *b*, *c*, *d*, *e*, bacterioclorofilas, clorofilas de *Chlorobium*, etc.). Las más conocidas son la *a* y la *b* que son las de más amplia distribución. Las clorofilas *c*, *d* y *e* se encuentran en algas, junto a las *a*; las bacterioclorofilas se hallan solamente en las bacterias fotosintéticas (Gil-Martínez, 1995).

Las clorofilas presentan el anillo tetrapirrólico unido a un anillo isocíclico pentanónico con un átomo de Mg quelado en el centro del tetrapirrol y el anillo D esterificado con un resto alcohólico diterpénico (fitol). Las formas *a* y *b* presentan máximos de absorción en el azul-violeta (4300-4600 Å) y en el rojo cercano (6400-6600 Å) variando ligeramente los picos según el disolvente en que se hagan las evaluaciones, *in vivo* o incluso, según los diversos métodos de medición que se utilicen (Gil-Martínez, 1995; Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Tanto en las plantas superiores como en otros organismos la concentración de clorofila *a* es el pigmento predominante que el de la clorofila *b*, que algunos autores lo consideran como un pigmento accesorio. Ambas clorofilas son componentes genuinos de las membranas fotosintéticas y aparecen en una proporción (*a/b*) de aproximadamente 3 a 1. Las condiciones de crecimiento y los factores ambientales pueden modificar esta proporción (Lichtenthaler, 1987).

Embry y Nothnagel (1994) en un estudio relacionado con la senescencia de las hojas en posproducción con nochebuenas de los cultivares “Amy” y “Lilo” bajo condiciones de baja luminosidad encontraron que los cultivares “Lilo” tuvieron un

mayor contenido de clorofila total por área foliar, además de una menor proporción de clorofila *a/b* que los cultivares “Amy”.

2.4.1.1 Clorofila a

Es un pigmento presente en las membranas tilaciodales, se encuentra unida por tres enlaces no covalentes a moléculas de proteína. En conjunto, los pigmentos del cloroplasto representan cerca de la mitad del contenido lipídico en las membranas tilacoidales, mientras que la otra mitad está compuesta sobre todo por galactolípidos con pequeñas cantidades de fosfolípidos (Salisbury y Ross, 1994).

Este pigmento absorbe longitudes de onda violeta, azul, anaranjado-rojizo, rojo y pocas radiaciones de las longitudes de onda intermedias (verde-amarillo-anaranjado) (Salisbury y Ross, 1994).

2.4.1.2 Clorofila b

Los pigmentos accesorios incluyen clorofila *b*, *c*, *d* y *e*, xantofilas y carotenos. Los pigmentos accesorios absorben energía que la clorofila *a* es incapaz de absorber. La clorofila *b* absorbe en el azul, rojo y en anaranjado del espectro. Actúan como pigmentos antena, conduciendo la energía que absorben hacia el centro de reacción (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Aunque Tanaka y Tanaka (1996) mencionan que la clorofila *b* no solo es un pigmento accesorio, sino que también es requerida para la estabilidad y/o inserción dentro de las membranas de las proteínas LHC y que la transcripción del gen *Lhc* no es un factor primario que regula el tamaño de la antena.

2.4.1.3 Biosíntesis de clorofila

El primer paso es la síntesis del precursor ácido δ -aminolevulínico (ALA). El precursor pirrol, porfobilinógeno (PBG), se forma a través de la condensación de cuatro moléculas de PBG con la eliminación del NH_3 . El producto es llamado uroporfirinógeno (urógeno), el cual tiene un ácido acético y una ácido propiónico residual ligado en cada uno de los anillos del pirrol. Se obtiene una mezcla de isómeros, de los cuales el erógeno III es el intermediario en la síntesis de la clorofila (Gil-Martínez, 1995).

El segundo paso involucra la descarboxilación de las cadenas laterales del ácido acético a grupos metil y la descarboxilación del oxígeno del ácido propiónico residual a grupos vinil en los anillos A y B. Después de una subsiguiente oxidación, se forma el macrociclo protoporfirina. La protoporfirina puede quilararse con metales; en las plantas con el magnesio formando Mg-protoporfirina. A través de múltiples transformaciones, la Mg-protoporfirina es transformada en protoclorofilida con el anillo de ciclopentanona (E) característico de las clorofilas (Gil-Martínez, 1995).

El tercer paso es la conversión de la protoclorofilida en clorofila *a*, que implica la protoreducción del anillo D. De esta forma el cromóforo, al cual la clorofila debe el color verde (Gil-Martínez, 1995).

El cuarto paso es la esterificación del ácido 7-propiónico residual de clorofilida con el fitol, por la enzima clorofilasa. Se considera que la clorofilasa tiene actividades biosintéticas y catabólicas (Gil-Martínez, 1995).

El paso final es la formación de clorofila *b*, que se asume que es formada a través de la oxidación del grupo 3-metil del anillo B o un grupo formal. La evidencia indirecta para esto es el hecho de que la clorofila *b* se forma sólo cuando la clorofila *a* está presente (Gil-Martínez, 1995).

2.4.1.4 Degradación de clorofila

La senescencia de las hojas comprende la degradación de proteínas, clorofilas, ácidos nucleicos membranas y transporte subsiguiente de la degradación de algunos productos de otras partes de la planta. El amarillamiento de las hojas debido a la degradación de la clorofila es el síntoma visible más obvio (Fang *et al.*, 1998).

Cuatro pasos de la ruta de la degradación de la clorofila han sido descritos:

1. Remoción del fitol por la acción de la clorofilasa. La clorofilasa es considerada la primera enzima clave en la ruta degradativa de la clorofila. Sin embargo, la actividad de la clorofilasa tiende a decrecer con la senescencia, indicándonos que otros factores además de la actividad de la clorofilasa regulan la degradación de la clorofila (Fang *et al.*, 1998).

Algunos reportes en hojas de limón indican que la clorofilasa está localizada en el interior de la membrana del cloroplasto. Con este descubrimiento se mantiene la hipótesis que la clorofilasa y la clorofila están separadas, lo cual previene la hidrólisis de la clorofila antes de la senescencia (Fernández-López *et al.*, 1991). En suma, la degradación de la clorofila *b* es diferente de la clorofila *a*. La clorofila *b* es degradada primeramente para ser convertida en clorofila *a*. Esta conversión es vía 7-

hidroximetil clorofila *a* y está acoplada con la unión de clorofila con apoproteínas (Ohtsuka *et al.*, 1997).

2. Remoción del magnesio de clorofilo por la Mg-dequelatasa. Algunos autores sugieren que la Mg-dequelatasa estuvo presente antes del ataque de la senescencia de la hoja y la actividad fue evocada como cloroplastos diferenciados en gerontoplastos. La aparición y mantenimiento de la actividad de Mg-dequelatasa en cotiledones en senescencia requiere de síntesis de proteína citoplásmica (Langmeier *et al.*, 1993).

3. Apertura oxigenolítica de porfirina macrocíclica en faenofórbido, el cual produce catabolitos de clorofila fluorescente (FCCs). Este tercer paso resulta del amarillamiento de hojas senescentes. La enzima responsable de este paso es faenofórbido *a* oxigenasa, la cual está localizada en el gerontoplasto. La actividad de esta enzima es detectable solamente en hojas senescentes. En suma, el tercer paso requiere de oxígeno, ATP, ferredoxina, NADPH, hierro y proteínas tilacoidales y del estroma (Hortensteiner *et al.*, 1995).

4. Catabolismo de FCCs a catabolitos de clorofila no fluorescente (NCCs) y la disposición de estos en vacuolas (Vicentini *et al.*, 1995).

2.4.1.5 Medidor portátil de clorofila SPAD

De algunos años a la fecha la utilización de un dispositivo lanzado por Minolta© llamado SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) ha venido a revolucionar la forma de medir la concentración de clorofila total y nitrógeno total en hojas de diversos cultivos (trigo, maíz, tomate, arroz, pasto, algodón, papa), ya que no hay la

necesidad de realizar un muestreo destructivo para la determinación de éstos (Yadava, 1986).

Los valores SPAD se basan en el principio de que parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto que se refleja entra en contacto con la celda detectora del SPAD-502 y es convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada, y la absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh *et al.*, 1994).

El principio de medición del Minolta SPAD-502 es medida por la transmitancia, basada en la longitud de onda de los 650 nm (verde) y 940 nm (infrarrojo) usando la siguiente ecuación (Ahmad *et al.*, 1999):

$$SPAD = K \log_{10} \left[\frac{IR_t / IR_o}{R_r / R_o} \right]$$

SPAD: Unidades SPAD de clorofila

K: Constante

IR_t: Transmitancia de NIR (940 nm)

IR_o: Poder de la luz de NIR

El contenido de clorofila y la absorción de nitrógeno se han correlacionado con las unidades SPAD en diversas condiciones ambientales como la intensidad luminosa, temperatura, humedad relativa, plagas, densidad de población, fuente de nitrógeno, etc. (Hiderman *et al.*, 1992; Piekielek y Fox, 1992).

El medidor portátil de clorofilas Minolta SPAD-502 debe ser calibrado para la especie e incluso, para la variedad y cultivar en la que se quieran hacer las mediciones y para las condiciones de crecimiento del cultivo. Una de las limitaciones de este medidor es que sus lecturas no se han estandarizado para diferentes especies, variedades, localizaciones y estados de crecimiento (Arregui y Mingo-Castel, 2000).

2.4.2 Carotenoides

Los carotenoides junto con las clorofilas y otros compuestos pertenecen al grupo de los lípidos isoprenoides. Los carotenoides son compuestos de cuarenta átomos de carbono con una estructura principal lineal con grupos metilo laterales cada cuatro carbonos, donde los principales están presentes en el cloroplasto del tejido vegetal fotosintético son α -caroteno, β -caroteno y 5 xantofilas: luteína, violaxantina, anteraxantina, zeaxantina y neoxantina. En tejido vegetal no fotosintético ocurre en cromoplastos (Azcón-Bieto y Talón, 2000; Fraser *et al.*, 2001). Estos pigmentos son sintetizados por todas las plantas superiores, algas y algunas bacterias y hongos (Fraser *et al.*, 2001).

La función fotosintética principal de los carotenoides es proteger al aparato fotosensible mediante mecanismos de disipación y extinción de energía. De modo alternativo, también tienen la función de ser pigmentos antena, sobre todo en el

espectro de luz entre los 450 y 500 nm, en el cual las clorofilas absorben poco (Salisbury y Ross, 1994). Una función más de estos compuestos relacionada con el estrés, es la de protección individual de los complejos pigmento-proteína (PPC) y al cloroplasto contra la foto-oxidación (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Dependiendo de las condiciones de crecimiento y factores de estrés, el porcentaje de composición de los carotenoides (% de peso) pueden variar con los siguientes rangos: β -caroteno 25-40%, luteína 40-57%, violaxantina 9-20% y neoxantina 5-13% (Lichtenthaler, 1987).

Tanto las clorofilas como los carotenoides poseen en su estructura sistemas de dobles enlaces conjugados. La presencia de estos sistemas es lo que confiere a estos pigmentos su capacidad para absorber luz visible, donde el espectro de absorción de los carotenoides está localizada (según la especie química concreta) entre los 400 y 550 nm (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

2.4.2.1 Biosíntesis de carotenoides

2.4.2.1.1 Ruta del mevalonato a prenil pirofosfato

El metabolito mevalonato es formado de Acetil-CoA vía hidroximetilglutaril-CoA. Los pasos subsecuentes envuelven dos reacciones kinasa dando paso al Ácido mevalónico pirofosfato, el cual después es descarboxilado a Isopentenil pirofosfato (IPP)². El IPP es la unidad de construcción para la síntesis de los terpenoides (Sandmann, 2000).

2.4.2.1.2 Ruta 1-deoxixilulosa-5-fosfato a prenil pirofosfatos

En bacterias y plastidios de plantas, la formación de prenil pirofosfatos los cuales son los precursores de los carotenoides proceden vía alternativa. Esta ruta inusual está referida tanto de la ruta 1-deoxixilulosa-5-fosfato como la del 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato. No todos los pasos de la reacción están elucidados hasta la fecha. Inicialmente, una unidad C₂ - del piruvato es condensa a gliceraldehido por la 1-deoxixilulosa-5-fosfato sintasa. Después, el producto es convertido a 2-C-metil-D-eritritol por la enzima 1-deoxixilulosa-5-fosfato reducto isomerasa. Las siguientes reacciones envuelven la formación de 4-difosfocitidil-2-C-metileritritol en una reacción dependiente CTP y fofsforilación en la posición 2 por el ATP. Subsecuentemente, el CMP es liberado para formar 2-C-metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato. Este producto puede ser el punto de partida de las rutas independientes al IPP y al dimetilalil pirofosfato (DMAPP) (Sandmann, 2000).

2.4.2.1.3 Formación e interconversión de los carotenoides

Los prenil pirofosfatos son formados por diferente prenil transferasa después los isomeriza de IPP a DMAPP por condensaciones sucesivas con moléculas de IPP. Las bandas de carbono son formadas entre el C-4 del IPP y el C-1 del co-sustrato alílico. En el caso de la síntesis del geranilgeranil pirofosfato (GGPP) este es el dimetilalil pirofosfato en plantas superiores o farnesil pirofosfato en muchas bacterias. En todas las reacciones de la prenil tranferasa el mecanismo cabeza-cola es básicamente el mismo (Sandmann, 2000).

La síntesis de fitoeno es el primer paso para la biosíntesis de carotenoides C-40. Esto ocurre por la condensación de dos moléculas de GGPP formando un

ciclopropilcarbonil entre el carbono 1 de la primera molécula de GGPP y los carbonos 2 y 3 de la segunda produciendo prefitoeno pirofosfato como intermediario. En plantas, el 15-cis-fitoeno es después formado por la eliminación del grupo pirofosfato y estereoespecíficamente el movimiento de protones. Subsecuentemente, cuatro pasos de deshidrogenación son tomados en la conversión de fitoeno a licopeno, el cual es el carotenoide vegetal con el número más alto de dobles bandas conjugadas (Sandmann, 2000).

El licopeno es el sustrato para reacciones de ciclización. Dos tipos de anillos son formados: los anillos β como un grupo final de ambos lados de β -caroteno y el anillo ϵ que se encuentra a un lado de α -caroteno con adición de un anillo β (Sandmann, 2000).

2.4.3 Antocianinas

Estos compuestos son el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles en plantas (Strack and Wray, 1994; Kong *et al.*, 2003). Pertenecen a un gran grupo de compuestos conocido como Flavonoides (Harborne, 1994; Kong *et al.*, 2003). En muchas flores así como en la nochebuena, son los pigmentos principales responsables de su coloración. Las antocianinas generalmente se encuentran como glucósidos, es decir, se pueden hidrolizar por la acción de enzimas o de ácidos en uno o más azúcares y en otra proporción de diferente naturaleza llamada aglicón o antocianidina (Salisbury y Ross, 1994).

En plantas superiores existen varios tipos de antocianinas y con frecuencia hay más de una en una flor (u otro órgano) en particular. Hasta la fecha han sido reportadas 19

clases de antocianidinas, donde las más comunes son la pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y la malvidina (Harborne, 1967; Iwashina, 2000). Las pelargonidinas generalmente dan lugar a tonalidades color naranja, las cianidinas a colores rojos y las delphinidinas a colores púrpura (Harborne, 1967; Jordan, 1993).

Las tonalidades que presenten las antocianinas dependen de su estructura química, así como del pH del medio en que se encuentren y su interacción con algunas sales; debido a estas propiedades y a la presencia común de más de una antocianina existe una amplia variación en los matices de las flores. Jordan (1993) menciona que entre los aspectos que pueden cambiar el color final se encuentra la proporción de diferentes antocianinas, la presencia de copigmentos como flavonas y flavonoles, así como la presencia de otros pigmentos tales como los carotenoides o iones metálicos y el pH de la vacuola.

Su estructura química es un grupo flavilo formado por una molécula de benzopirano unida a un anillo fenílico; la forma normal en que se encuentra en las plantas es como β -glucósido. Siendo los azúcares más comunes la β -glucosa, *D*-galactosa, *L*-arabinosa y xilosa (Jordan, 1993).

Para la biosíntesis de las antocianinas el primer paso de la ruta de los fenilpropanoides es la producción de ácido cinnámico de la fenilalanina, producido en la ruta del ácido shikimico, por la acción de la PAL. El ácido cinnámico es convertido en ácido cumárico, el cual es modificado a la forma CoA. Tres moléculas de malonil CoA combinado con *p*-cumarol-CoA forman naringenina chalcona, el cual después es convertido en flavanona, naringenina. El siguiente paso es la

formación de dihidroxiflavonol, el cual es reducido a flavan-3,4-diol, o leucoantocianina y ésta es convertida en antocianidina. Finalmente, la molécula de glucosa es adjuntada por la acción de UDP glucosa: Flavonoide 3-O-glucosiltransferasa (GT; EC 2.4.1.91) resultando en la antocianina (Heller and Forkmann, 1988; Kong *et al.*, 2003).

La ruta de los fenilpropanoides provee de antocianinas usadas en la pigmentación, además sirve de protección contra los rayos UV, en la formación de fitoalexinas, etc. La enzima Chalcona Sintasa (CHS; EC 2.3.1.74) juega un papel esencial en la biosíntesis de esta ruta (Ferrer *et al.*, 1999).

La CHS supe el 4,2',4',6' tetrahidroxi chalcona de algunas enzimas que sintetizan una diversidad de fitoalexinas y antocianinas. La síntesis del chalcón por la acción de la CHS envuelve la condensación secuencial de una molécula de *p*-coumaril y tres de malonil-coenzima-A (CoA). Después de la captura inicial de la mitad del *p*-coumaril, cada paso subsiguiente de la condensación empieza con la descarboxilación del malonil-CoA en el sitio activo de la CHS; dando como resultado acetil-CoA, que posteriormente sirve como el nucleófilo para la elongación de la cadena. Estas reacciones generan un tetraquétido intermediario que cicla mediante condensación a un sistema con una anillo aromático hidroxilado (Ferrer *et al.*, 1999).

Por otra parte la enzima Chalcona Isomerasa (CHI, EC 5.5.1.6) cataliza la ciclización intramolecular de 4,2',4',6'-tetrahidroxi chalcona (chalcona) y de 6'-deoxichalcona (4,2',4'-trihidroxi chalcona), ambas derivadas de la enzima Chalcona Sintasa (CHS, EC 2.3.1.74), en (2*S*)-naringenina (5,7,4'-trihidroxi flavanona) y (2*S*)-5-deoxi

flavanona (7,4'-dihidroxi flavanona), respectivamente (Jez *et al.*, 2000; Jez and Noel, 2002) (Figura 1).

La ciclización espontánea de los chalcones en una solución produce una mezcla enantiomérica de flavanonas, la CHI garantiza la formación del activo biológico (2*S*)-flavanonas. Ejemplo: (2*S*)-naringenina es el precursor metabólico de las antocianinas, y mutaciones en el gen CHI está ligado a los cambios en la pigmentación floral y recientemente la introducción del gen CHI de petunia en tomate, dio como resultados frutos enriquecidos en su contenido de flavanol (Jez and Noel, 2002). Curiosamente, además la CHI parece estar exclusivamente en el reino vegetal (Jez *et al.*, 2000).

En un estudio de expresión génica de la síntesis de antocianinas con flores de manzana Royal Gala, se encontró que la máxima actividad enzimática tanto de la PAL como de la CHI fue cuando se presentó también la mayor concentración de antocianinas totales (Dong *et al.*, 1998).

Una alta actividad enzimática de la PAL está asociada con la acumulación de antocianinas y otros compuestos fenólicos en muchos tejidos de diversas especies (Camm and Towers, 1977; Chen and Breen, 1991; Lister and Lancaster, 1996; Dong *et al.*, 1998).

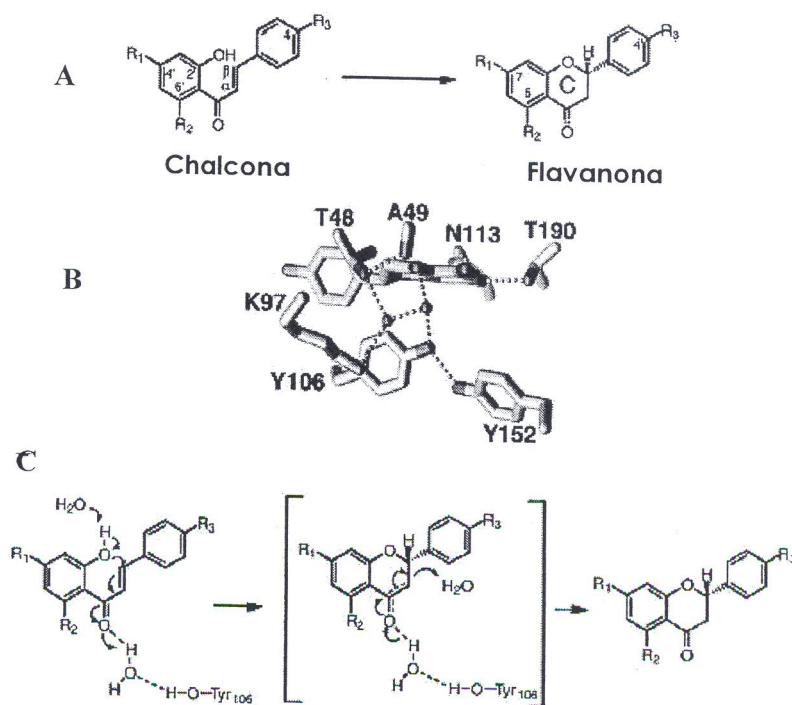


Figura 1. Reacción catalizada por CHI y arquitectura del sitio activo. *A*, Reacción catalizada por CHI. La CHI cicla 4,2',4',6'-tetrahidroxi chalcona (R_1 , R_2 , $R_3 = \text{OH}$), 4,2',4'-trihidroxi chalcona (R_1 , $R_3 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$), 2',4'-dihidroxi chalcona ($R_1 = \text{OH}$, R_2 , $R_3 = \text{H}$), y 4,2'-dihidroxi chalcona (R_1 , $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$) a 5,7,4'-trihidroxi flavanona (R_1 , R_2 , $R_3 = \text{OH}$), 7,4'-dihidroxi flavanona (R_1 , $R_3 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$), 7-hidroxi flavanona ($R_1 = \text{OH}$, R_2 , $R_3 = \text{H}$) y 4'-hidroxi flavanona (R_1 , $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$). *B*, vista del sitio activo y red de enlaces hidrógeno en el complejo CHI-naringenina (líneas punteadas). *C*, reacción de ciclización propuesta catalizada por la CHI (Jez and Noel, 2002).

Una de las funciones que presentan estos compuestos son: dar color a las flores para que sirvan de atrayentes de abejas y aves que transportan polen de una planta a otra, con lo que contribuyen a la polinización (Harborne, 1994). También las antocianinas tienen su importancia al contribuir a determinadas propiedades, como son el color dentro de la industria alimentaria (Cartaya y Reynaldo, 2001).

Por medio de la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), en nochebuena se han identificado algunas antocianinas como la cianidin 3-galactosida, la 3-glucosida, la cianidin 3-rutinosida y la pelargonidina. Dentro de los flavonoles se identificaron el 3-rhamnosilgalactosida, 3-rhamnosilglucosida, 3-galactosidas, 3-glucosidas, 3-rhamnosida de quercitina y el kaempferol (Asen, 1979). Algunos autores mencionan que tanto la cianidina como la pelargonidina se encuentran presentes en las brácteas y en el follaje verde-rojizo de la nochebuena.

Las brácteas de los cultivares blancos carecen de antocianinas, pero tienen más flavonoles que los cultivares rojos. Las hojas de la mayor parte de los cultivares de nochebuena producen solo pequeñas cantidades de antocianina en la epidermis del peciolo (Stewart *et al.*, 1980).

La acumulación de clorofila se detiene cuando las hojas jóvenes de nochebuena comienzan a acumular las antocianinas bajo condiciones de días cortos (Kannangara y Hansson, 1998).

2.5 Fenoles

El término compuesto fenólico abarca un gran número de sustancias que poseen un anillo aromático unido a uno o más sustituyentes hidroxilo. Los compuestos fenólicos son solubles en agua porque la mayoría de las veces se encuentran unidos a azúcares formando glucósidos, y normalmente se localizan en las vacuolas. Entre los compuestos fenólicos naturales se encuentran los flavonoides, los fenoles monocíclicos, los fenilpropanoides, las quinonas fenólicas y las cumarinas. Las sustancias poliméricas de las plantas como lignanos y taninos son polifenólicos y ocasionalmente también se encuentran unidades fenólicas en las proteínas, los alcaloides y los terpenoides (Harborne, 1973).

Cuando están puros, los fenoles simples son sólidos incoloros, pero generalmente se oxidan y se vuelven oscuros por exposición al aire. La solubilidad en agua aumenta de acuerdo con el número de grupos hidroxilo presentes y son bastante solubles en disolventes orgánicos polares. Los fenoles que son ligeramente solubles en agua se disuelven rápidamente en soluciones acuosas diluidas de hidróxido de sodio, y en condiciones básicas aumenta considerablemente su velocidad de oxidación, por lo que debe evitarse el tratamiento prolongado con álcalis concentrados (Valencia, 1995).

La biosíntesis y acumulación de los fenoles está controlado por procesos endógenos durante la diferenciación y esto es regulado por factores exógenos como la luz, la temperatura o algún proceso infeccioso. La fenilalanina producida en las plantas por la ruta del ácido shiquímico es el precursor de la mayoría de los compuestos fenólicos en las plantas superiores. El anillo B de la unidad C₃ es derivado del ácido

shiquímico, mientras que el anillo *A* es formado por la condensación cabeza-cola de dos unidades de malonil CoA y acetil CoA, de la ruta malonato-acetato. Las cuatro enzimas principales involucradas en este proceso son: CA4H (ácido cinnámico 4-hidroxilasa); CHS (chalcona sintasa); 4CL (4-coumarato Coenzima A ligasa) y PAL (fenilalanina amonio-liasa) (Harborne, 1973).

McClure (1979) menciona que la luz incrementa la actividad de la mayoría de las enzimas relacionadas en la biosíntesis de los fenoles y por lo tanto también hay un aumento de los éstos en la planta, pero que también depende de factores como la nutrición de la planta.

La actividad fisiológica de los compuestos fenólicos de las plantas es muy diversa. Algunos pueden actuar en la fisiología interna de las plantas que los contienen, otros pueden tener importancia en la ecología, algunos intervienen en el transporte electrónico fotosintético y en la regulación de las actividades de enzimas como la indol-3-acético oxidasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y una muy importante es la de las peroxidasas. Hay compuestos fenólicos inhibidores de la germinación de semillas, otros actúan como repelentes a herbívoros (Valencia, 1995).

En un estudio realizado para ver el efecto de la fertilización foliar en nochebuena cultivar "Supjibi" se encontró que la concentración de fenoles es mayor en las brácteas que en las hojas, además que la actividad enzimática de la Peroxidasa fue mayor obteniendo una relación inversa con la concentración de fenoles totales en hojas. También se llegó a la conclusión que la actividad de diversas enzimas

oxidativas, así como la concentración de fenoles se vieron afectadas por la aplicación de molibdeno en interacción con calcio y boro (Alia-Tejacal y Colinas-León, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Desarrollo de los experimentos

3.1.1 Material Vegetal

Para llevar a cabo el presente estudio, se adquirieron esquejes de los cultivares Supjibi (rojo), Mármol y V-17 "Angelika" (blanca) en la empresa Viveros Plantec, ubicada en Puente de Ixtla, Morelos. Se transplantaron en macetas de plástico verde con un tamaño de 6" y el sustrato que se utilizó fue adquirido en la misma empresa que lo emplea para la producción de nochebuena. Esto ocurrió el día 2 de julio de 2003. Una vez transplantados los esquejes de los cultivares en estudio fueron trasladados a dos localidades: Viveros ProBios (Cuautla, Morelos) y Viveros Mancilla (Texcoco) para su crecimiento y desarrollo.

3.1.2. Localización

El presente estudio se llevó a cabo en dos localidades contrastantes bajo condiciones de invernadero. La primer localidad fue Viveros Probios, ubicados en Cuautla, Morelos (24.6°C, 74% HR, Longitud 99° 01' Latitud 18° 49', Altitud 1,300 msnm) y la segunda ubicación en Viveros Mancilla ubicados en la comunidad de Xocotlán, Municipio de Texcoco, Estado de México (14.6°C, 61.6% HR, 19° 31' de latitud norte y 19° 53' de longitud oeste, altitud de 2310 msnm), con un clima templado semiseco con lluvias en verano y temperatura media anual de 15.9°C (García, 1988).

3.1.3 Diseño de tratamientos

Los tratamientos establecidos para el desarrollo de este estudio fueron la combinación de las dos localidades y los tres cultivares, lo que generó un total de 6 tratamientos.

3.1.4 Transplante

El transplante se realizó el 3 de julio del 2003, el sustrato utilizado se adquirió en la Empresa PLANTEC, que es una mezcla que contiene 40% de polvo de coco, 40% de tepojal cribado, 20% de composta y 3 kg de osmocote por m^3 ya esterilizado. Se utilizaron macetas de plástico tipo estándar con un tamaño de 6'' de color verde. Una vez transplantados los esquejes se aplicó un riego pesado. Un día después del transplante se realizó una poda (pinchado) dejando entre 5 y 7 yemas.

3.1.5 Manejo del cultivo

Al inicio del experimento se aplicó fertilizante soluble Peters professional 15-05-25 Poinsettia Peat-Lite Special, con una dosis de $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, dos veces por semana, alternado con $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Una vez trasladados los cultivos a sus respectivas localidades se realizaron las actividades tradicionalmente como el productor está acostumbrado, con sus respectivos riegos (de 2 a 3 veces por semana), fertilización (de 1 a 2 veces por semana) y manejo de plagas (principalmente mosca negra y mosquita blanca) y enfermedades (principalmente *Botrytis*). Y las diferencias fundamentales fueron proporcionadas por el ambiente y el tapado que se realizó en la localidad de Texcoco para inducir la pigmentación, en Cuautla no se realizó esta práctica.

3.1.6 Tapado de plantas

A partir del día 15 de septiembre de 2003 y hasta el 12 de noviembre las plantas fueron cubiertas con un plástico negro, desde las 18:00 hrs. hasta las 8:00 hrs. para inducir la pigmentación de las brácteas en la localidad de Texcoco. En la localidad de Cuautla no se realizó esta práctica.

3.2 Variables evaluadas

Se realizaron cuatro muestreos destructivos, a los 84, 114, 140 y 155 días después del transplante, donde se evaluaron los siguientes:

3.2.1 Crecimiento de nochebuena en dos localidades contrastantes

3.2.1.1 Altura de planta

Para esta evaluación desde el 29 de julio hasta el 3 de diciembre de 2003 se evaluó el crecimiento de la planta con una regla métrica, donde cada 2 semanas se tomó la altura de la planta, registrando su valor para su posterior graficación.

3.2.1.2 Número de hojas

Se contaron el número de hojas maduras de cada uno de los cultivares en estudio a partir del 29 de julio hasta el 3 de diciembre.

3.2.1.3 Área foliar total, peso fresco total de hojas

Se seleccionaron al azar 5 plantas por tratamiento, a cada una de ellas se les retiraron todas las hojas separando las de la parte superior y la inferior; las hojas de la parte superior se utilizaron para posteriores pruebas. La medición se hizo con un integrador de área foliar de rodillo LI-COR modelo LI-3100. A estas mismas hojas se les determinó el peso fresco total.

3.2.1.4 Peso específico de hojas

Se determinó mediante la relación peso seco de la hoja entre el área foliar de la misma. Se tomaron 4 muestras de hojas con un sacabocados por cada repetición y se

colocaron en una estufa donde posteriormente se pesaron y se sacó un promedio por cada tratamiento; el área del sacabocados fue de 1.76715 cm².

3.2.2 Cambios fisiológicos y bioquímicos en nochebuena desarrollada en dos localidades

3.2.2.1 Extracción y cuantificación de pigmentos

3.2.2.1.1 Clorofilas y Carotenoides totales

Se determinó el contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides totales de las hojas/brácteas de la parte superior de las plantas siguiendo la metodología de la AOAC (1998). Se pesó 0.1 g de tejido vegetal fresco de diversas partes de la hoja o bráctea, posteriormente se colocó el tejido en tubos de vidrio donde se le agregó primeramente 5 mL de acetona fría al 80 % v/v y se trituro la muestra en un homogenizador de tejidos. Después se le agregó nuevamente otros 5mL de acetona para su posterior homogenización. A continuación se centrifugó a 4°C la muestra a 5 400 x g durante 10 minutos. Una vez clarificadas las muestras se les determinó la absorbancia a 645 (clorofila *a*), 663 (clorofila *b*) y 470 nm (carotenoides totales) en un espectrofotómetro Spectronic 21D Milton Roy, donde como blanco fue la acetona 80 %. Todo esto se hizo en oscuridad.

La cantidad de clorofila que se encuentra en el extracto se calculó de acuerdo con los siguientes modelos matemáticos:

$$\text{mg clorofila } a/\text{g de peso fresco} = [12.25 (A_{663}) - 2.79 (A_{645})] \times V/(1000 \times W)$$

$$\text{mg clorofila } b/\text{g de peso fresco} = [21.5 (A_{645}) - 5.1 (A_{663})] \times V/(1000 \times W)$$

$$\text{mg clorofila total/g de peso fresco} = [7.15 (A_{663}) + 18.71 (A_{645})] \times V/(1000 \times W)$$

Donde:

A = Lectura de absorbancia

V = Volumen final del extracto clorofila – acetona 80%

W = Peso fresco en g del tejido

La cantidad de carotenoides totales presentes en el extracto se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{mg g}^{-1} \text{ de carotenoides totales de peso fresco} = (1000 \times A470) - (1.82 \times CC \text{ a}) - (85.02 \times CC \text{ b})/198$$

Donde:

A = Lectura de absorbancia

$CC \text{ a}$ = Contenido de clorofila a

$CC \text{ b}$ = Contenido de clorofila b

3.2.2.1.2 Lecturas SPAD

Se determinó el contenido de clorofila total por medio de un medidor de clorofila portátil SPAD-502 Minolta© (Soil Plant Analysis Development) donde se tomaron cuatro lecturas por repetición utilizando un promedio de éstas. Con los valores registrados se llevarán a cabo pruebas de correlación con los valores obtenidos de clorofila total para así determinar si existe una relación entre el contenido de clorofila en hojas/brácteas con las lecturas de este equipo.

3.2.2.1.3 Actividad Enzimática de CHI y fenoles totales

Para las determinaciones de fenoles totales y actividad de la CHI se partió de utilizar polvo de acetona, el cual se obtuvo a partir de 20 g de hojas/brácteas más 50 mL de acetona fría (4°C) al 100% molidas en una licuadora y filtradas al vacío descartándose la acetona. Este procedimiento se realizó por segunda vez con el tejido, y se dejó secar a temperatura ambiente en el laboratorio (18°C) y se almacenó a -4°C hasta que se realizó el ensayo enzimático. El sobrenadante fue utilizado para la determinación de fenoles totales siguiendo el método de Folin-Ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994).

3.2.2.1.3.1 Fenoles totales

Se utilizaron 0.03 mL del sobrenadante además de 16.97 mL de agua desionizada más 1 mL de Folin-Ciocalteu y 2 mL de carbonato de sodio 20%. Posteriormente se agitó y se dejó reposar por 2 horas bajo condiciones de oscuridad para después leer la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Spectronic 21D Milton Roy. La cuantificación se realizó mediante una curva patrón de ácido tánico y el valor de la concentración de fenoles totales se registró como $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso fresco.

3.2.2.1.3.2 Actividad Enzimática de Chalcona Isomerasa (CHI)

Se determinó la actividad enzimática de CHI a partir del polvo de acetona, siguiendo la metodología de Dong *et al.*, (1998) con algunas modificaciones. Se tomó 0.05 g de muestra la cual fue mezclada en 2 mL de 0.1 M de buffer fosfato (pH 7.5) y 1.4 mM de 2-Mercaptoetanol en un homogenizador de tejidos. Posteriormente la mezcla fue centrifugada a 25 000 x g durante 20 minutos, utilizando el sobrenadante para el ensayo enzimático. Para llevar a cabo el ensayo se tomó 1 mL que contenía 0.1 M de

buffer fosfato (pH 7.5), 10 mM de KNC, 10 mM de etilenglicol-monometil-eter, 50-100 μL de la enzima (sobrenadante) y 18.5 μM de 4,2',4'-trihidroxi chalcona (disuelta en 10 μL de etanol). La reacción se comenzó a medir con la adición del sustrato, donde hubo una disminución en el cambio de absorbancia a 370 nm a los 20-25 segundos. La actividad enzimática presente se registró como U de actividad enzimática $\cdot \text{g}^{-1}$ de peso fresco $\cdot \text{min}^{-1}$. En donde una unidad es igual al cambio en la $\Delta_{370\text{nm}}$.

3.2.2.1.4 Antocianinas totales

Se determinó el contenido de antocianinas totales de las hojas de la parte superior o de las brácteas de las plantas siguiendo la metodología utilizadas por Kannangara y Hansson (1998), donde se pesó 0.1 g de tejido fresco de diversas partes de la hoja o bráctea, después se colocó en tubos de cristal donde se le adicionó primeramente 5 mL de HCl 0.1N frío y se trituro la muestra en un homogenizador de tejidos. Después se le agregó nuevamente otros 5mL de HCl para su posterior homogenización. A continuación se centrifugó la muestra a 2 500 x g por 15 minutos. Una vez clarificadas las muestras se les determinó la absorbancia a 516 nm en un espectrofotómetro Spectronic 21D Milton Roy, donde como estándar fue el HCl 0.1N. Todo este procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones de oscuridad.

La concentración de antocianinas totales presentes en el extracto se calculó de acuerdo a Eder (1996) y se expresaron en $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de peso fresco:

$$C = A \times \text{PM}/e$$

Donde:

C = Concentración

A = Lectura de absorbancia

PM = Peso molecular del pigmento, en este caso se tomo el de cianidin 3-glucósido = 485

e = Coeficiente de extinción molar, 25,740.

3.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial donde el factor localidad son: Cuautla y Texcoco y el factor cultivares son: Mármol, Supjibi y V17 “Angelika” Blanca. Con 10 repeticiones para las variables de altura de planta y número de hojas, considerando una planta como unidad experimental; y 5 repeticiones para el resto de las variables en estudio.

3.4 Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante un análisis de varianza en un diseño para determinar el efecto de los factores (localidad y cultivar) sobre las variables analizadas. Se aplicó la prueba de Tukey para determinar diferencias significativas entre las medias de los tratamientos con un nivel de probabilidad del 5%. Para el caso de clorofila total y las unidades SPAD se realizó un análisis de correlación de Pearson. El programa estadístico utilizado fue SAS statistical software (1989).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Crecimiento de nochebuena en dos localidades contrastantes

4.1.1. Altura de planta

Los cultivares desarrollados en Cuautla tuvieron una mayor altura, el cultivar más alto fue V-17 “Angelika”, los cultivares “Supjibi” y “Mármol” tuvieron un crecimiento similar (Figura 2). En Texcoco el comportamiento fue inverso, es decir, los cultivares “Supjibi” y “Mármol” fueron de mayor altura que el cultivar V-17 “Angelika”. Martínez (1995) menciona que existen cultivares que por sus características genéticas son de hábito de crecimiento alto, medio-alto (como los cultivares “Mármol” y V-17 “Angelika”), mediano (“Supjibi”), compacto y muy compacto. Sin embargo, un incremento en la temperatura durante el crecimiento del cultivo se ve traducido en una mayor longitud de las plantas (Kristoffersen, 1968).

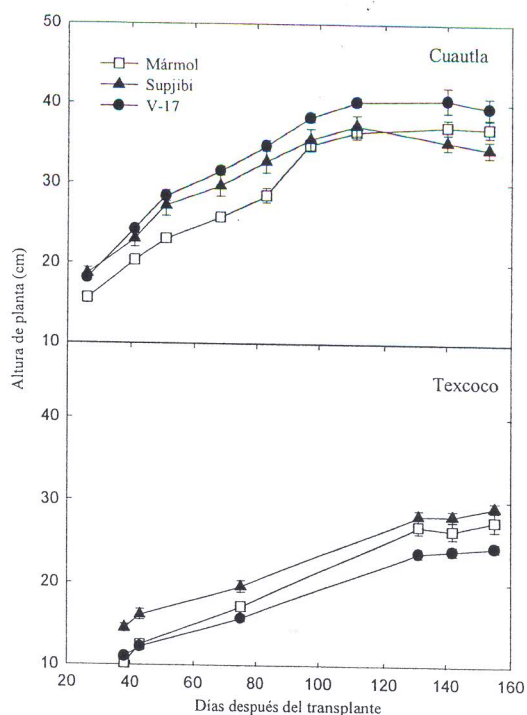


Figura 2. Altura en los cultivares estudiados en dos localidades contrastantes.

El crecimiento se comportó de manera lineal entre los 26 y 111 días después del transplante (ddt) en Cuautla y entre 26 y 140 ddt en Texcoco, posteriormente se observó una meseta hasta los 155 ddt, esto sugiere un crecimiento sigmoidal. Fisher *et al.* (1996) en un estudio para encontrar un modelo matemático de representación del crecimiento y desarrollo de nochebuena cultivar "Freedom" mencionan que se presentan tres fases; la primera fase se caracteriza por un incremento exponencial, la segunda fase es donde la elongación muestra un comportamiento cercano a la linealidad y la etapa tres muestra una fase de meseta en la cual la tasa de elongación se mantiene constante o incluso empieza a declinar. En el presente trabajo se observó un crecimiento sigmoidal en los tres cultivares evaluados y en las dos localidades, donde solo se detectaron diferencias en la tasa de crecimiento entre las localidades.

A los 155 ddt los cultivares de Cuautla tuvieron valores de 36.9 cm ("Mármol"), 34.4 cm ("Supjibi") y 39.5 cm (V-17 "Angelika"), por su parte en Texcoco presentaron valores de 26.1, 29.3 y 24.7 cm de longitud, respectivamente.

4.1.2. Número de hojas

El cultivar de mayor cantidad de follaje en la localidad de Cuautla fue V-17 "Angelika" con 337.1 al final del estudio, y en Texcoco presentó una menor cantidad de hojas (67.6). El cultivar "Supjibi" mostró un comportamiento similar, es decir, en Cuautla tuvo mayor número de hojas (202) que en la localidad de Texcoco con 73.3 hojas cuantificadas. "Mármol" alcanzó el máximo número de hojas entre 131 y 140 ddt, posteriormente a este incremento comenzó la caída de hojas, síntoma del inicio de senescencia (Figura 3). El mayor número de hojas en Cuautla explica la mayor longitud de la planta (Martínez, 1995). También se puede asociar a que la

temperatura promedio en el invernadero, durante el periodo de evaluación, fue mayor en la localidad de Cuautla (24.2°C) que en Texcoco (14.6°C) en aproximadamente 10°C.

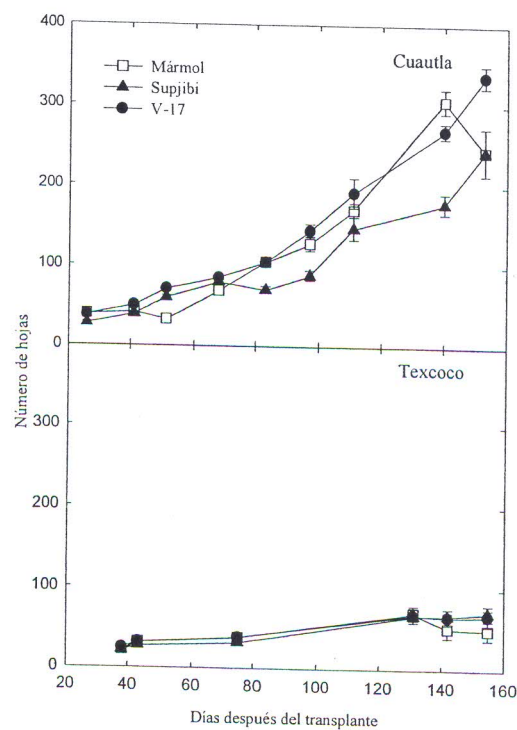


Figura 3. Número de hojas en los cultivares estudiados en dos localidades contrastantes.

4.1.3. Área foliar

El área foliar mostró un comportamiento similar a la altura y número de hojas, donde los tres cultivares desarrollados en la localidad de Cuautla obtuvieron una mayor área foliar, por lo tanto es una consecuencia directa del mayor número de hojas (Figura 3). Durante toda la fase del estudio los cultivares que se establecieron en Cuautla mostraron mayor área total que la de los correspondientes cultivares en Texcoco.

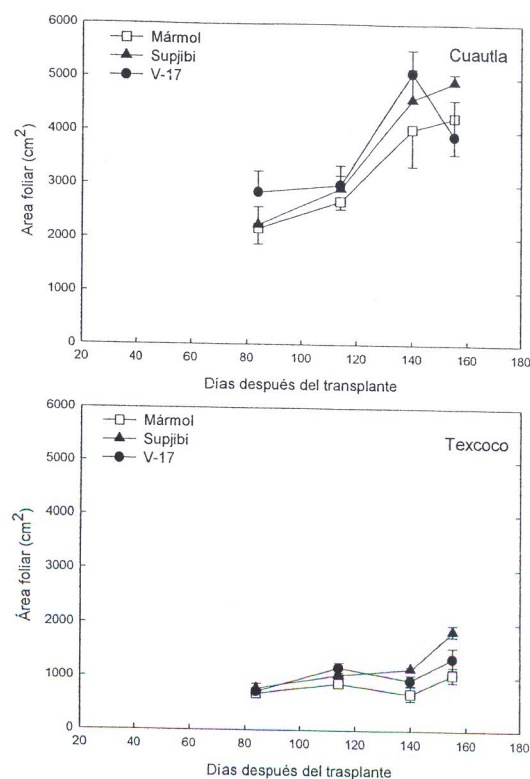


Figura 4. Área foliar de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

“Supjibi” durante el experimento obtuvo un valor promedio de 3674.2 cm^2 de área foliar en Cuautla, mientras que en la localidad de Texcoco fue de 1211.15 cm^2 . “Mármol” presentó en Cuautla 3290.5 cm^2 , siendo menor en Texcoco con 826.0 cm^2 y V-17 “Angelika” obtuvo un valor promedio de 3714.1 cm^2 en la localidad de Cuautla, mientras que en Texcoco el área foliar fue de 1046.9 cm^2 . El incremento del área foliar en Cuautla se presentó a los 120 ddt y en Texcoco a los 140 ddt, lo anterior indica que la localidad afectó el desarrollo del área foliar y como lo indica Martínez (1995) la temperatura es un factor determinante en el crecimiento de las plantas. Además que dentro de cierto límite, las altas temperaturas como en el caso de la localidad de Cuautla (24.6°C) promueven la actividad metabólica de las

plantas, lo cual a su vez tiene como consecuencia un crecimiento mayor, como sucedió en el presente experimento.

4.1.4. Peso fresco de hojas

El cultivar de mayor peso fresco fue “Supjibi” de igual manera ocurrió en Texcoco, el valor máximo fue de 128.3 g a los 155 ddt. Los cultivares restantes, “Mármol” y V-17 “Angelika”, mostraron un comportamiento similar durante el experimento en ambas localidades, con la diferencia que en Cuautla hubo mayor peso fresco de hoja en comparación con Texcoco (Figura 5).

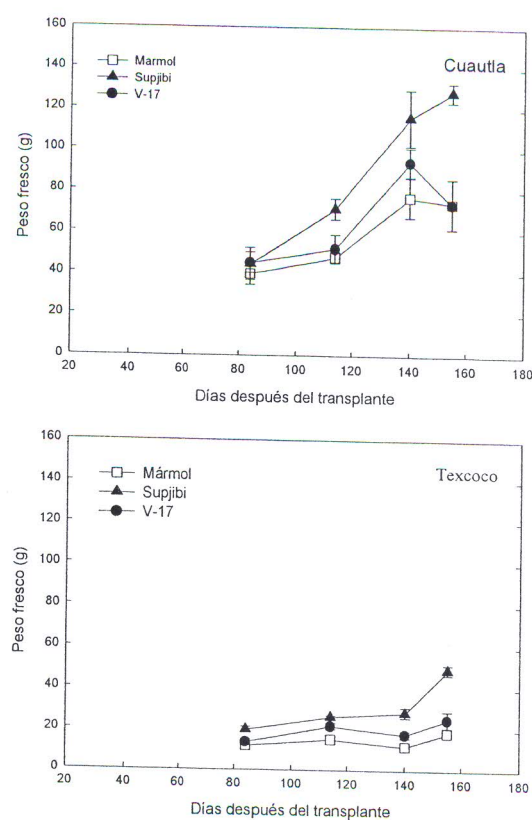


Figura 5. Peso fresco de hojas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Al finalizar el experimento “Mármol” tenía 24.9 % más de peso fresco en Cuautla que su contra parte de Texcoco. Las plantas del cultivar ‘V-17 Angelika’ en Cuautla tuvieron un valor de 73.7 g de peso fresco siendo estadísticamente ($p=0.0001$) diferente que las plantas establecidas en Texcoco con un 33.9 % menos de peso fresco.

Este comportamiento se ve afectado por las condiciones de la localidad así como sucedió con el parámetro de área foliar total, dado que existe una relación entre el área foliar y el peso fresco. Bidwell (1990) menciona que el desarrollo de una planta se ve afectado por múltiples factores y uno de esos es la temperatura, que a mayor temperatura se presenta una mayor tasa de peso fresco que en temperaturas bajas, así como una mayor área foliar está relacionado con un mayor número de hojas.

4.1.5. Peso específico de hojas

Los valores de peso específico de hojas de los cultivares en la localidad de Texcoco fueron más altos que en Cuautla, pero los cultivares “Supjibi” y V-17 “Angelika” de Texcoco resultaron ser estadísticamente diferentes al final del experimento que su contraparte de Cuautla, por otra parte las plantas del cultivar ‘Mármol’ resultaron no ser diferentes durante todo el estudio en ambas localidades (Figura 6).

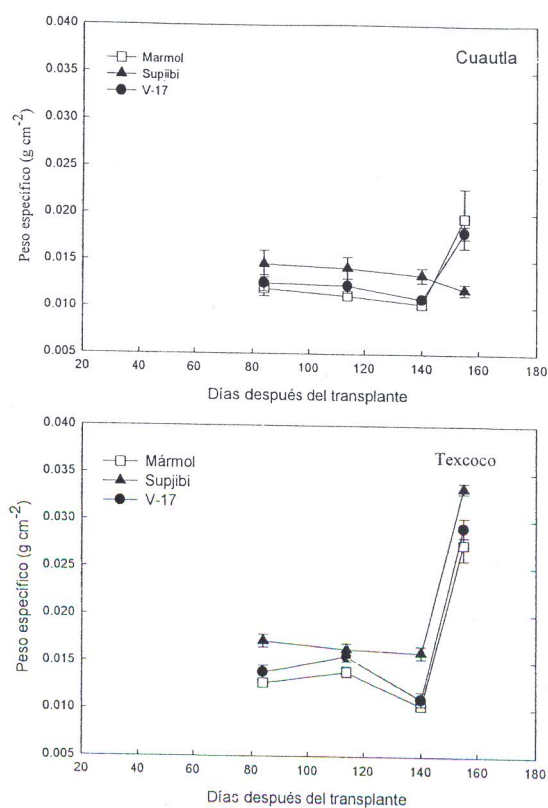


Figura 6. Peso específico de las hojas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Los cultivares en ambas localidades presentaron un aumento del peso específico después de los 140 ddt con excepción de las plantas de “Supjibi” en Cuautla que presentó un valor de 0.0119 g cm^{-2} y en Texcoco obtuvo un 35.6 % en esta variable. El cultivar “Mármol” al final tuvo $0.02746 \text{ g cm}^{-2}$ en Texcoco y en Cuautla $0.01954 \text{ g cm}^{-2}$ de peso específico, mientras que el cultivar V-17 “Angelika” obtuvo un valor $0.01804 \text{ g cm}^{-2}$ en Cuautla, mientras que en Texcoco el valor fue de 0.0292 g cm^{-2} , representado más del 100% en comparación con Cuautla.

Este comportamiento de aumento en el peso específico de las hojas de nochebuena se le puede atribuir a que en el periodo de los 155 días después del trasplante tiene

relación con la maduración de la hojas y la acumulación de fotoasimilados (Castillo, 1996). Sin embargo para el cultivar "Supjibi" la disminución del peso específico se le puede relacionar con la edad de la hoja y su estado de desarrollo, posiblemente a través de una mayor tasa de respiración (Chaumont *et al.*, 1994).

4.2. Cambios en las variables bioquímicas en nochebuena desarrollada en dos localidades

4.2.1. Clorofila *a*

Los cultivares desarrollados en Cuautla presentaron valores más altos en su contenido de clorofila *a* que los establecidos en Texcoco. La diferencia en contenido de clorofila *a* de las dos localidades siempre fue estadísticamente significativa (Figura 7).

En la localidad de Cuautla los cultivares mostraron un aumento en su concentración de clorofila *a* a los 114 ddt, donde los cultivares "Mármol", "Supjibi" y V-17 "Angelika" mostraron concentraciones de 2.49, 2.99 y 1.54 mg g⁻¹ de peso fresco, respectivamente. Sin embargo a los 140 días después del transplante hubo una disminución en 19.7, 16.5 y 26.7 %, respectivamente. Posteriormente los cultivares tuvieron un aumento en menor proporción al final del estudio con concentraciones de 0.573, 0.736 y 0.894 mg g⁻¹ de peso fresco, respectivamente.

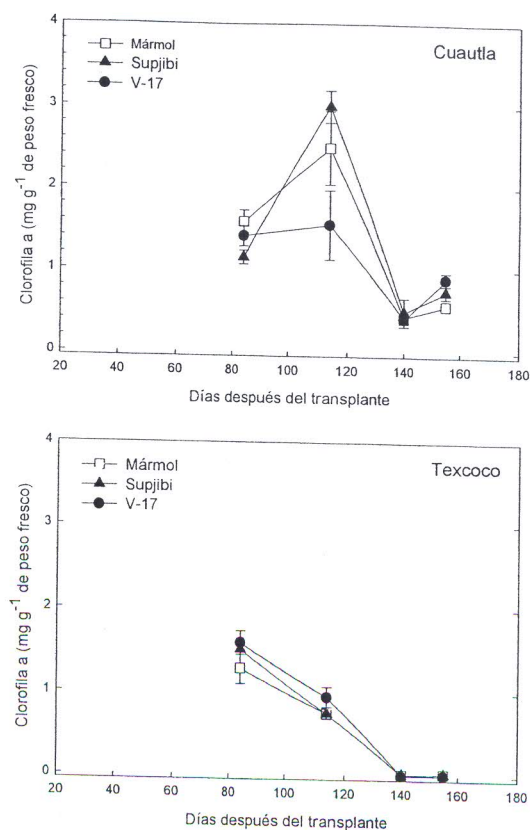


Figura 7. Contenido de clorofila a de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

En Texcoco la concentración de clorofila *a* durante el experimento fue disminuyendo con el tiempo hasta los 140 ddt y finalmente aumentar al final como sucedió en la localidad de Cuautla. Con valores iniciales de 1.28, 1.51 y 1.59 mg g⁻¹ de peso fresco para “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika”, respectivamente. La concentración disminuyó a valores de 0.0196, 0.0197 y 0.0082 mg g⁻¹ de peso fresco a los 140 ddt. Posteriormente un leve incremento en la concentración de clorofila *a* fue observado en los cultivares en estudio aumentando a 0.0244, 0.0244 (para los cultivares “Mármol” y “Supjibi”) y 0.0085 (cultivar V-17 “Angelika”).

Lo anterior concuerda con lo reportado por Ayala (2004) en un estudio con el cultivar “Supjibi”, donde la concentración de clorofila *a* disminuye se desarrolla el

cultivo y también menciona que aproximadamente entre los 145 y 146 días después del transplante se incrementa la concentración de clorofila *a*, esto implica que la hoja empieza a restablecer su capacidad fotosintética para la producción de fotoasimilados, que son demandados por las brácteas en proceso de formación.

4.2.2. Clorofila *b*

Los cultivares desarrollados en Cuautla tuvieron los valores más altos en su concentración de clorofila *b*, los cultivares “Supjibi” y V-17 “Angelika” si tuvieron diferencias significativas a partir del segundo muestreo en ambas localidades, sin embargo, el cultivar “Mármol” estadísticamente se comportó igual en ambas localidades (Figura 8). Se mantiene la misma tendencia de comportamiento que la clorofila *a* (disminución), sólo que los valores de concentración de clorofila *b* son menores y que no hay un aumento de éstos al final del estudio.

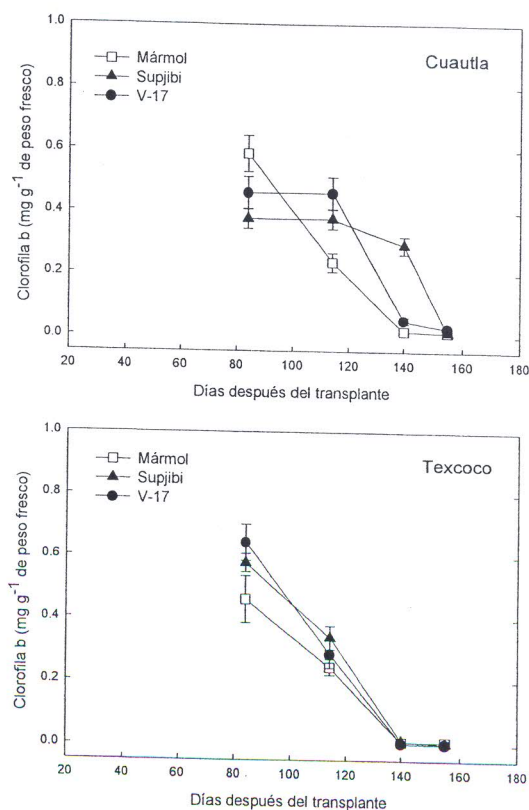


Figura 8. Contenido de clorofila b de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Los cultivares “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika” de la localidad de Cuautla a los 84 ddt presentaron valores de 0.585, 0.375 y 0.458 mg g⁻¹ de peso fresco de clorofila *b*, respectivamente, conforme avanzaron los días estos valores disminuyeron hasta el final del estudio (155 ddt) con valores de 0.012, 0.012 y 0.025 mg g⁻¹ de peso fresco, respectivamente. De igual forma en Texcoco los valores en la concentración de clorofila *b* en el muestreo inicial (84 ddt) fueron de 0.460, 0.576 y 0.643 mg·g⁻¹ de peso fresco para los cultivares “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika” respectivamente. La concentración de la clorofila *b* disminuyó hasta valores de 0.0089, 0.0052 y 0.0022 mg g⁻¹ de peso fresco de clorofila *b* en los

cultivares “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika” respectivamente, después de 155 ddt.

Yang *et al.* (1995) mencionan que la acumulación de clorofila *b* por arriba de la clorofila *a* dará como resultado una disminución gradual en la relación *a/b* de este pigmento. Afirman que una alta intensidad luminosa inhibe la capacidad biosintética de la clorofila, especialmente de la clorofila *b*, que da como resultado una baja concentración de clorofila total y una alta proporción de clorofila *a/b*.

4.2.3. Relación clorofila a/b

Durante el experimento los valores más altos en cuanto a la relación de la clorofila *a* con respecto a la *b* de la localidad de Cuautla, con excepción del segundo muestreo (114 ddt) donde los cultivares desarrollados en Texcoco obtuvieron una mayor proporción en comparación con Cuautla (Figura 9).

El cultivar “Mármol” al inicio de las evaluaciones no presentó diferencias significativas entre ambas localidades. Se observó un valor de 2.71 en Cuautla y de 2.82 para Texcoco. Conforme transcurrió el experimento la relación *a/b* aumento en la localidad de Cuautla hasta alcanzar un valor 155 ddt de 6.77; caso contrario en Texcoco en donde para la segunda evaluación (114 ddt) la relación *a/b* aumentó a 3.07 y posteriormente disminuyó a 2.107, para que nuevamente aumentara a 2.86.

Los cultivares “Supjibi” y V-17 “Angelika” en la localidad de Texcoco al inicio de las evaluaciones presentaron valores de 2.63 y 2.48 respectivamente y nuevamente hubo un aumento para posteriormente disminuir este valor en la tercera evaluación.

Al final del estudio los cultivares tuvieron una relación de clorofila a/b de 1.254 y 3.936 (Figura 9).

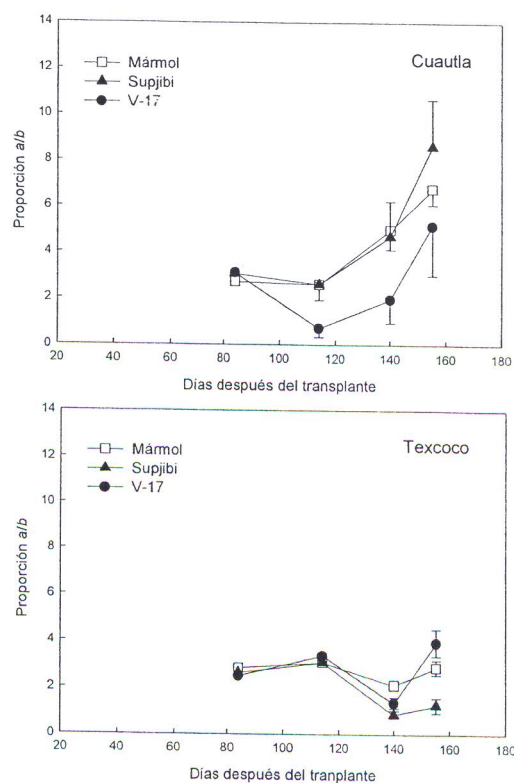


Figura 9. Proporción de clorofila a/b de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Los cultivares “Supjibi” y V-17 “Angelika” de Cuautla presentaron valores estadísticas más altos en su proporción, que los desarrollados en Texcoco. A los 84 ddt presentaron valores de 3.069 y 3.109, respectivamente. Posteriormente este valor disminuyó para después aumentar nuevamente para llegar a 8.614 y 5.151 en la relación a/b al final de las evaluaciones (Figura 9).

Lichtenthaler (1987) menciona que ambas clorofilas son componentes genuinos de las membranas fotosintéticas y que la proporción de clorofila a/b es de

aproximadamente 3 a 1. Además los hábitos de crecimiento y los factores ambientales pueden modificar y/o regular esta relación (Yang *et al.*, 1995), tal y como se muestra en este estudio. También la exposición de las plantas a altas intensidades de luz genera una proporción *a/b* de 3.2 a 4 en comparación con plantas bajo condiciones de sombra que tienen valores de 2.5 a 2.9 (Lichtenthaler, 1987; Embry and Nothnagel, 1994).

La literatura también menciona que los cultivares con una baja relación *a/b* pueden tender hacia una mejora en la longevidad interna (Embry and Nothnagel, 1994). Yang *et al.* (1995) mencionan que cuando la relación *a/b* se mantiene constante es porque existe un balance en la síntesis y degradación de la clorofila *a* y *b*. Además que durante etapas jóvenes esta proporción aumenta.

4.2.4. Clorofila total

En Cuautla se observó valores mayores de concentración de clorofila total que los observados en Texcoco (Figura 10). En Cuautla los valores al inicio de los muestreos (84 ddt) de los cultivares “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika” mostraron valores de 2.166, 1.552 y 1.864 mg g⁻¹ respectivamente, pero 114 ddt la concentración de este pigmento aumentó a 3.824, 4.166 y 4.593 mg g⁻¹ de peso fresco, respectivamente, y finalmente disminuyó considerablemente hasta valores de 0.059, 0.036 y 0.032 mg g⁻¹.

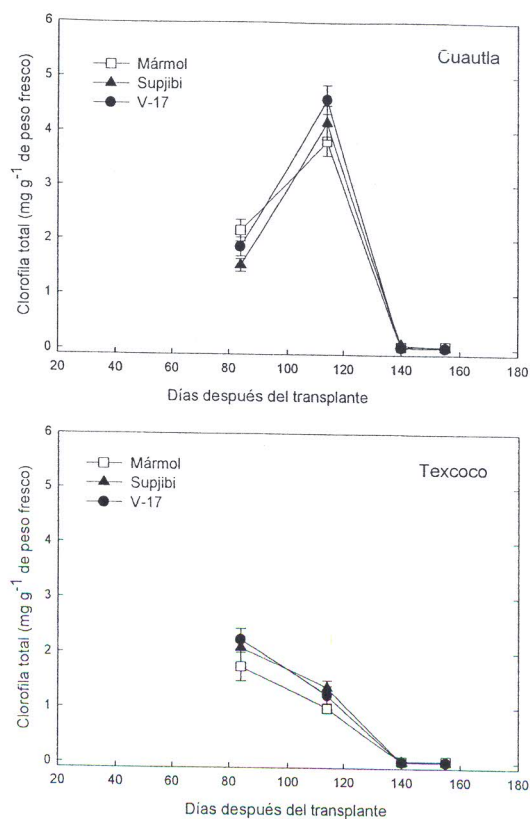


Figura 10. Clorofila total de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

En Texcoco todos los cultivares presentan una tendencia a disminuir la concentración de clorofila total, inicialmente se cuantificaron valores de 1.744, 2.089 y 2.236 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de peso fresco en la concentración de clorofila total para “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika”, respectivamente. Conforme el tiempo avanzó la concentración de clorofila total disminuyó hasta a valores de 0.033, 0.011 y 0.010 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de peso fresco para los respectivos cultivares (Figura 10).

Como anteriormente se mencionó, se calculó la correlación de la concentración de clorofila total de los tratamientos de todo el estudio con las lecturas obtenidas del equipo SPAD. En Cuautla los valores de los coeficientes de correlación fueron 0.242 (“Mármol”), 0.379 (“Supjibi”) y 0.419 (V-17 “Angelika”). En Texcoco estas

correlaciones fueron de 0.181, -0.503 y 0.205, respectivamente. Ninguna correlación fue estadísticamente significativa (Anexo 1-6).

Kannangara y Hansson (1998) mencionan que durante el fotoperiodo corto la acumulación de clorofilas en las brácteas se detiene cuando inicia la acumulación de antocianinas, tal y como se observó en este estudio, ya que las brácteas al comienzo de la pigmentación presentaron mayor contenido de clorofila y conforme avanzó el proceso de pigmentación su contenido fue disminuyendo significativamente.

Durante las últimas 2-3 semanas del fotoperiodo corto la disminución de clorofila y el aumento en la síntesis de antocianinas se debe a la pérdida de uno o más componentes clave involucrados en la biosíntesis de cloroplastos o quizá se deba a la disminución drástica de las dos sub-unidades Olive y CH_{42} que forman parte del complejo Mg-quelataza que se encuentra en la bráctea al igual que la clorofila, canalizando rutas de biosíntesis protoporfirina IX a clorofila (Kannangara y Hansson, 1998; Ayala, 2004).

4.2.5. Carotenoides totales

Durante las dos primeras evaluaciones, Texcoco mostró valores más altos de carotenoides totales en los cultivares “Supjibi” y V-17 “Angelika” que en Cuautla; por su parte, el cultivar “Mármol” a los 84 ddt tuvo los valores más altos en Cuautla que en Texcoco. En el segundo muestreo (114 ddt) esta variable fue mayor en Texcoco, pero estadísticamente iguales en ambos muestreos. Posteriormente para las evaluaciones a los 140 y 155 ddt, en Cuautla se observaron valores más altos que los de Texcoco; siendo estadísticamente diferentes (Figura 11).

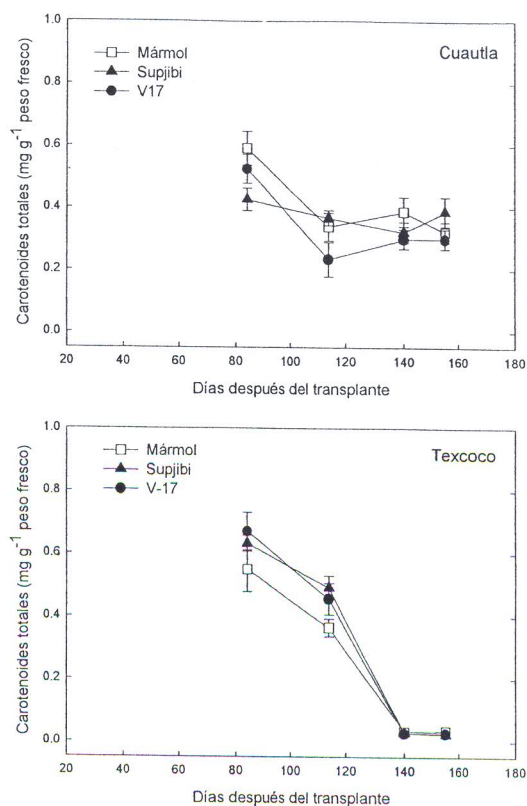


Figura 11. Contenido de carotenoides totales de las hojas/brácteas de los cultivos en estudio en dos localidades contrastantes.

La concentración de carotenoides totales de los cultivos establecidos en Cuautla comienza con valores de 0.591, 0.426 y 0.524 en su concentración de carotenoides totales para los cultivos “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika”, respectivamente. Conforme avanza el tiempo la concentración del pigmento disminuyó para la segunda evaluación, pero a los 140 ddt aumentó ligeramente en los cultivos “Mármol” y V-17 “Angelika”, no siendo así en el cultivo “Supjibi” que continuó disminuyendo. Al final de las evaluaciones los cultivos en estudio tuvieron valores de 0.321 (“Mármol”), 0.387 (“Supjibi”) y 0.298 (V-17 “Angelika”) mg g⁻¹ de peso fresco.

En Texcoco los cultivares en estudio mostraron valores al muestreo inicial de 0.549, 0.632 y 0.671 de carotenoides totales y este valor disminuyó hasta concentraciones de 0.033, 0.022 y 0.025 mg g⁻¹ de peso fresco. En otoño, en las hojas los carotenos y las xantofilas se esterifican y desaparecen más lentamente, tal y como se mostró en el presente estudio con los cultivares de la localidad de Texcoco (Gil-Martínez, 1995). Además una deficiencia de carotenoides en las plantas puede causar una disminución en la concentración de clorofila (Yang, *et al.*, 1995). Este comportamiento en la disminución de la concentración de los carotenoides totales concuerda con lo reportado por Ayala (2004) en un estudio realizado con el cultivar “Supjibi”. Para el caso en el que los carotenoides aumentaron, esto se debió a las condiciones en la localidad de mayor intensidad luminosa (Cuautla) por lo que la planta necesita proteger a la clorofila, y hay un aumento en su concentración (Bidwell, 1990; Gil-Martínez, 1995).

4.2.6. Fenoles totales

Durante todo el estudio en Cuautla se observaron mostraron los valores más altos en la concentración de fenoles que fueron estadísticamente diferentes de los observados en Texcoco (Figura 12). En Cuautla los cultivares mostraron valores iniciales de 24.76 (“Mármol”), 15.57 (“Supjibi”) y 22.51 (V-17 “Angelika”) µg·g⁻¹ de peso fresco en fenoles totales. Al seguir evaluando estos compuestos la tendencia fue aumentando, donde a los 140 ddt se determinaron valores de 63.69, 52.87 y 60.07 µg g⁻¹ de peso fresco, respectivamente. En el muestreo final la concentración de los fenoles disminuyeron en los cultivares “Mármol” y “Supjibi” (61.00 y 38.44 µg·g⁻¹ de fenoles totales), no así en el cultivar V-17 “Angelika” (64.68 µg g⁻¹ de peso fresco).

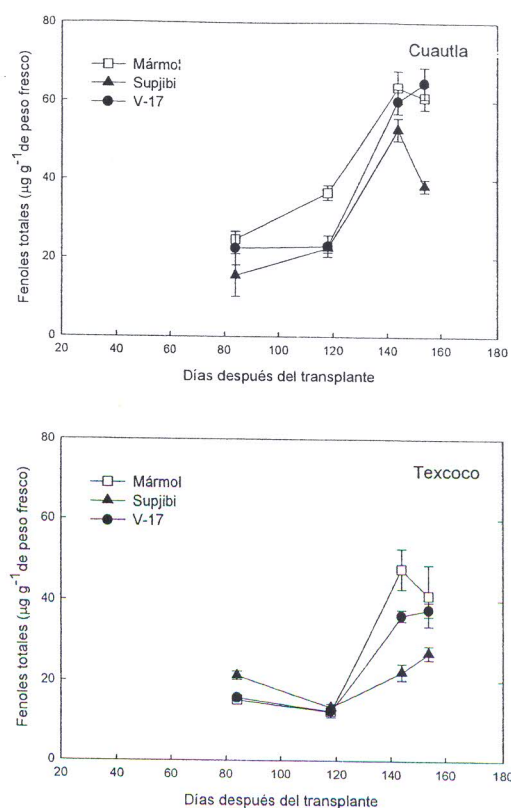


Figura 12. Cambios en fenoles totales de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Los cultivares “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika” establecidos en Texcoco al inicio de las evaluaciones (84 ddt) tuvieron valores de 15.28, 21.36 y 15.85 $\mu\text{g g}^{-1}$ de fenoles totales, pero en el segundo muestreo la concentración disminuyó a 12.36, 13.45 y 12.50 $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso fresco, posteriormente en el tercer muestreo (140 ddt) hubo un aumento de los fenoles totales (47.87, 22.32 y 36.36 en su concentración, respectivamente) y al finalizar los muestreos se obtuvo valores de 41.21 (“Mármol”), 27.05 (“Supjibi”) y 37.7 (V-17 “Angelika”) $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso fresco.

La luz incrementa la actividad de la mayoría de las enzimas que forman parte de la síntesis de los fenoles (McClure, 1979; Laitinen *et al.*, 2002). Además, indica que una mayor temperatura es factor determinante para que la concentración sea mayor que en temperaturas bajas.

La concentración de compuestos fenólicos puede variar tanto en órganos como en tejidos de plantas, estados de desarrollo y también puede ser influenciada por factores ambientales como la luz UV, la nutrición de la planta, la cantidad de agua, etc. (Laitinen et al., 2002).

4.2.7 Actividad enzimática de CHI

Los cultivares desarrollados en la localidad de Texcoco tuvieron una mayor actividad enzimática que los establecidos en Cuautla durante el presente estudio (Figura 13). Los cultivares “Mármol”, “Supjibi” y V-17 “Angelika” en Cuautla a los 84 ddt mostraron valores de 0.4291, 0.5881 y 0.4488 Unidades·g⁻¹ de peso fresco·min⁻¹. Conforme transcurría el tiempo de evaluación esta actividad fue aumentando paulatinamente hasta llegar al los 155 ddt a 53.9, 119.87 y 59.18 Unidades·g⁻¹ de peso fresco·min⁻¹, respectivamente. Por su parte los cultivares establecidos en Texcoco mostraron un comportamiento similar a los desarrollados en Cuautla, con la diferencia que hubo una mayor actividad enzimática en esta localidad. A los 84 ddt mostraron 0.6764 (“Mármol”), 0.4505 (“Supjibi”) y 0.6160 (V-17 “Angelika”) Unidades·g⁻¹ de peso fresco·min⁻¹ y al final del estudio (155 ddt) la actividad enzimática llegó a 164.14, 202.49 y 107.65 Unidades·g⁻¹ de peso fresco·min⁻¹, respectivamente.

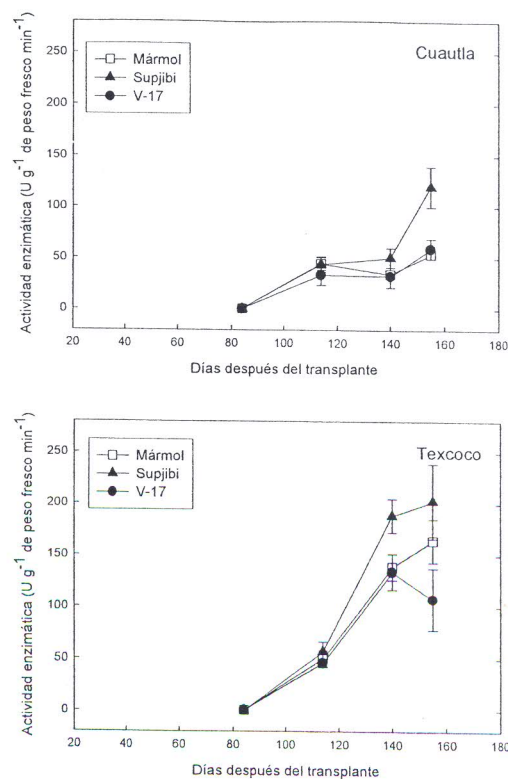


Figura 13. Actividad enzimática de la Chalcona isomerasa (CHI) de cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Los resultados indican que los cultivares rojos (“Supjibi”) tuvieron una mayor actividad enzimática en ambas localidades, esto debido a que la actividad enzimática de la CHI es parte esencial de la biosíntesis de la flavanona (precursor de los pigmentos florales) y enzima clave en la formación de antocianinas, por lo tanto se indica que una mayor concentración de antocianinas totales se deba a una mayor actividad enzimática de la CHI (Dong *et al.*, 1998; Jez and Noel, 2002), tal y como se observó en el presente estudio. Por su parte los cultivares veteados y blancos (“Mármol” y V-17 “Angelika”) presenta una menor actividad enzimática ya que son cultivares con brácteas blancas que carecen de antocianinas pero contienen mayor cantidad de flavonoles (Stewart *et al.*, 1980), pero esto no significa que la actividad

enzimática de la CHI no regule o actue en la biosíntesis de compuestos flavonoles (Heller and Forkmann, 1988; Harborne, 1994; Iwashina, 2000; Li *et al.*, 2002).

Shaked-Sachray *et al.* (2002) mencionan que uno de los factores externos que afectan la síntesis, acumulación y estabilidad de las antocianinas en tejidos vegetales es la temperatura. Además mencionan que la relación existente de la actividad enzimática de la CHI bajo condiciones de alta temperatura se ve disminuida, tal y como sucedió en este estudio, para el caso de los tres cultivares crecidos en Cuautla.

4.2.8 Antocianinas totales

Los cultivares desarrollados en Texcoco fueron los que tuvieron los valores más altos en concentración de antocianinas totales, aunque no fueron estadísticamente diferentes que de los observados en Cuautla (Figura 14). El cultivar “Mármol” cultivado en Cuautla mostró un comportamiento constante y 155 ddt tuvo un incremento menor, resultando no ser estadísticamente diferente que su contraparte de Texcoco, en la cual la tendencia fue similar.

De igual forma se comportó V-17 “Angelika” en ambas localidades, a los 84 ddt se cuantificó un valor de 13.25 y 13.99 mg·g⁻¹ de peso fresco en la localidad de Cuautla y Texcoco, respectivamente. Posteriormente sufrió una disminución para comportarse de manera constante y llegar al final de las evaluaciones con valores de 8.08 y 7.25 mg g⁻¹ de peso fresco en su localidad respectiva.

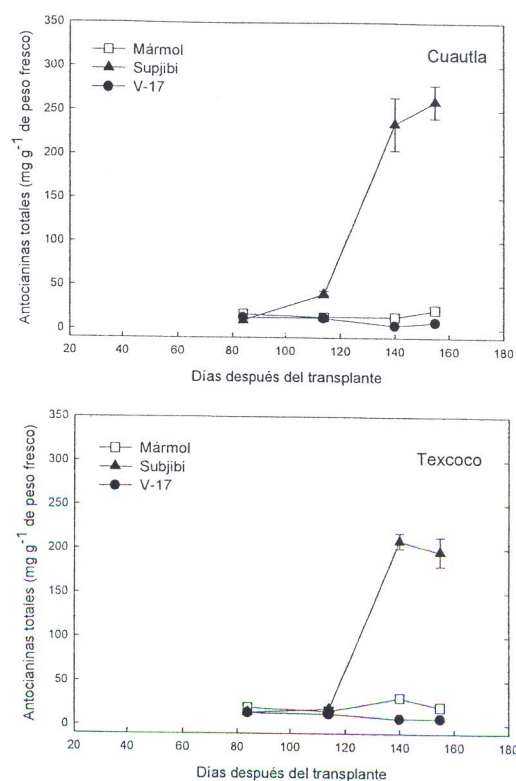


Figura 14. Contenido de antocianinas totales de las hojas/brácteas de los cultivares en estudio en dos localidades contrastantes.

Las brácteas de los cultivares blancos carecen de antocianinas, pero tienen más flavonoles que los cultivares rojos (Stewart *et al.*, 1980). Para el cultivar “Supjibi”, al comienzo de las evaluaciones registró valores de 9.70 y 14.23 mg g⁻¹ de peso fresco para la localidad de Cuautla y Texcoco, respectivamente, estadísticamente iguales. Conforme transcurrió el experimento esta concentración fue aumentando gradualmente hasta llegar a su valor máximo de 260.24 mg g⁻¹ de peso fresco Cuautla al final, no siendo así en Texcoco donde el valor máximo alcanzado fue a los 140 días ddt (19 de noviembre) con 196.62 mg g⁻¹ de peso fresco, posteriormente al final del estudio la concentración de antocianinas totales disminuyó a 196.62 mg·g⁻¹ de peso fresco.

Kannangara y Hansson (1998) mencionan que durante el fotoperiodo corto la acumulación de clorofilas en las brácteas se detiene cuando se inició la acumulación de antocianinas, tal y como se observó en este estudio, ya que las brácteas al comienzo de la pigmentación presentaron mayor contenido de clorofila y conforme avanzó el proceso de pigmentación su contenido fue disminuyendo significativamente. Aproximadamente a la cuarta semana de iniciado el fotoperiodo corto (17 de septiembre-12 de octubre) las hojas más jóvenes empezaron a acumular antocianinas y se tornaron rojas, llegando a su nivel óptimo a las 8 semanas de inducción (Kannagara y Hansson, 1998; Ayala, 2004).

V. CONCLUSIONES

Los cultivares "Mármol", "Supjibi" y V-17 "Angelika" presentan diferencias en crecimiento y desarrollo entre sí, así como en aspectos bioquímicos involucrados en el proceso de pigmentación por efecto de las condiciones donde se desarrollan.

Las variedades cultivadas en la localidad de Cuautla tuvieron una mayor altura de planta, número de hojas y área foliar que en Texcoco, por efecto de la luz, temperatura y humedad relativa de las condiciones ambientales.

Las condiciones de la localidad de Texcoco generaron un mayor peso específico en los cultivares "Mármol", "Supjibi" y V-17 "Angelika" que su contraparte de Cuautla.

Las condiciones bajo las que se desarrollaron los cultivares de Cuautla indujeron un mayor contenido de clorofilas *a*, *b*, relación *a/b*, clorofila total y carotenoides totales que los cultivados en Texcoco.

Los cultivares desarrollados bajo las condiciones en Cuautla presentaron mayor contenido de fenoles totales, siendo los cultivares "Mármol" y V-17 "Angelika" los que tuvieron una mayor concentración.

El cultivar "Supjibi" presentó mayor contenido de antocianinas totales en ambas localidades de desarrollo que los otros dos cultivares, ya que los cultivares blancos o veteados poseen mayor contenido de flavonoles.

La mayor actividad enzimática de CHI lo presentaron los cultivares en Texcoco, siendo el cultivar "Supjibi" en donde se obtuvo la mayor actividad en ambas localidades, esto influenciado por el efecto de la temperatura.

VI. LITERATURA CITADA

- Ahmad, I. S., J. F. Reid, N. Noguchi, and A. C. Hansen. 1999. Nitrogen sensing for precision agriculture using chlorophyll maps. ASAE/CSAE-SCGR Annual International Meeting. July 18-21. Paper No. 993035.
- Alia-Tejacal, I. y M. T. Colinas-León. 2003. Efecto de la fertilización foliar en postproducción de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Wild.). p. 248. In: Almaguer V. G.; T. Colinas L.; A. Flores M.; R. Mora A.; E. Vidal L.; H. González R.; C. Ayala S.; J. M. Mejía M. (eds). Memoria de Resúmenes del X Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, IX Congreso Nacional y II Internacional de la Asociación Mexicana de Horticultura Ornamental. 20 al 24 de octubre del 2003. Chapingo, Mex., México. Vol. 10.
- Anónimo. <http://usda.mannlib.cornell.edu/reports/nassr/other/zfcbb/flor0400.txt>
(Página web consultada el día 26 de octubre de 2003).
- AOAC, 1998. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Washington D. C. USA.

- Arregui, L. M. y Mingo-Castel, A. M. 2000. Aplicación del medidor portátil de clorofilas en los programas de fertilización nitrogenada en patata de siembra. Libro de actas del Congreso Iberoamericano de Investigación y Desarrollo de Patata 2000. 3-6 Julio, Vitoria-Gasteiz, España. p 157-170.
- Asen, S. 1979. Flavonoid chemical markers in poinsettia bracts. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104: 223-226.
- Ayala, A. J. 2004. Influencia del calcio, boro y molibdeno en la calidad de nochebuena. Tesis de Maestría en Ciencias. Depto. de Fitotecnia. UACH. Chapingo, México. 114 p.
- Azcón-Bieto, M. Talón. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Editions University of Barcelona. Editorial McGraw-Hill Interamericana.
- Ball, V. 1991. Ball Red Book. Ball Publishing. 15th Ed. Minnesota, USA. 802 p.
- Bidwell, R. G. S. 1990. Fisiología Vegetal. A. G. T. Editor. México, D.F. 783 pp.
- Camm, E. L. and G. H. N. Towers. 1977. Phenylalanine ammonia-lyase, p. 169-188. In: L. Reinhold, J. B. Harborne and T. Swain (eds.). *Progress in Phytochemistry*. Vol. 4. Pergamon Press, New York.

Carmichael, J. L. 1990. Manual de Nochebuena PLANTEC. Ed. No. 4. Amacuzac, Morelos. 23 p.

Cartaya O. y Reynaldo I. 2001. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. 22:5-14.

Castillo G., A. M. 1996. Fluctuación anual de carbohidratos y nutrimentos en relación al amarre de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill) cv. Colín V-33. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 137 p.

Chaumont, M., J. F. Morot-Gaudry, and C.H. Foyer. 1994. Seasonal and diurnal changes in photosynthesis and carbon partitioning in *Vitis vinifera* leaves in vines with and without fruit. *J. Exp. Bot.* 278: 1235-1243.

Chen, G. W. and J. P. Breen. 1991. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanin and phenolics in developing strawberry fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(5):865-869.

Dong Yi-Hu, L. Beuning, Davies K., D. Mitra, B. Morris, and Kootstra A. 1998. Expression of pigmentation genes and photo-regulation of anthocyanin biosynthesis in developing Royal Gala apple flowers. *Aust. J. Plant Physiol.* 25:245-252.

- Ecke, P., O. A. Matkin, and D. E. Hartley. 1990. The Poinsetia Manual. Paul Ecke Poinsettias, Publisher. Encinitas, California, USA. 267 p.
- Eder, R. 1996. Pigments. *In: Handbook of food analysis*, Nollet, L. M. L. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA. 973-1014 pp.
- Embry, J. L. and E. A. Nothnagel. 1994. Leaf senescence of postproduction poinsettias in low-light stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119:1006-1013.
- Fang, Z., J. C. Bouwkamp and T. Solomos. 1998. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimental Botany*. 49:503-510.
- Fernández-López, J. A., L. Almeda, J. M. López-Roca and C. Alcaráz. 1991. Iron deficiency in *Citrus limon*: effects on photochlorophyllase synthetic pigments and chlorophyllase activity. *Journal of Plant Nutrition*. 14:1133-1144.
- Ferrer J. L., J. M. Jez, M. E. Bowman, R. A. Dixon and J. P. Noel. 1999. Structure of chalcone synthase and the molecular basis of plant polyketide biosynthesis. *Nature Structural Biology*. 6(8):775-784.

- Fisher, P. R., R. D. Heins and J.H. Lieth. 1996. Quantifying the relationship between phases of stem elongation and flower initiation in poinsettia. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121:686-693.
- Fraser P. D., P. Bramley, and G. B. Seymour. 2001. Effect of the *Cnr* mutation on carotenoid formation during tomato fruit ripening. *Phytochemistry* 58:75-79.
- Galicia, J. A. B. 2000. Intensidad de sombreado y su influencia en el crecimiento y calidad de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex. Klotzschii) cv. Supjibi. Tesis de Maestría en Ciencias. Especialidad de Botánica. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.
- García M., E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climático de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Gil-Martínez, F. 1995. Elementos de Fisiología Vegetal- Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. p. 411-442.
- Harborne J. B. 1967. Comparative Biochemistry of the Flavonoids. Academic Press. London, Great Britain. p. 3.
- Harborne, J. B. 1973. Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis. 1st Edition. Chapman & Hall. Great Britain. p. 33.

- Harborne J. B. 1994. The Flavonoids: advances in research since 1986. 1st Edition. Chapman & Hall. Great Britain. 335 p.
- Heller, W. and G. Forkmann. 1988. Biosynthesis, p. 399-425. *In*: J. B. Harborne (ed.) The Flavonoids. Chapman and Hall, London.
- Hiderman, J., A. Makino, Y Kurita, T. Masa y K. Ojima. 1992. Changes in the levels of chlorophyll and light-harvesting chlorophyll a/b protein of PS II in senescence. *Plant Cell Physiol.* 53: 1209-1214.
- Holcomb, E. J., C. Lee, and R. Berghage. 1996. Interaction of DIF and irrigation method on poinsettia. *Bull. Penn. Flower Growers N.* 437: 232-239.
- Hortensteiner, S., F. Vicentini and P. Matile. 1995. Chlorophyll breakdown in senescent cotyledons of rape, *Brassica napus* L.: enzymatic cleavage of phaeophorbide a in vitro. *New Phytologist.* 129:237-246.
- Iwashina T. 2000. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *J. Plant Res.* 113:287-299.
- Jez J. M., Bowman M. E., Dixon R. A. and Noel J. P. 2000. Structure and mechanism of the evolutionarily unique plant enzyme chalcone isomerase. *Nature Structural Biology*, 7(9): 786-791.

- Jez, J. M. and J. P. Noel. 2002. Reaction mechanism of chalcone isomerase. *J. Biol. Chem.* 277(2): 1361-1369.
- Jordan, B. R. 1993. The Molecular Biology of Flowering. C.A.B. International. 265 p.
- Kannangara C., and M. Hansson. 1998. Arrest of chlorophyll accumulation prior to anthocyanin formation in *Euphorbia pulcherrima*. *Plant Physiol. Biochem.* 36:843-848.
- Kong J. M., L. S. Chia, N. K. Khang, T. F. Chia, and R. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocianins. *Phytochemistry* 64:923-933.
- Kristoffersen T. 1968. Influence of daylength and temperature on growth and development in poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd.). *Acta Horticulturae* 14:73-89.
- Krugh, B., L. Bichham y D. Miles. 1994. The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. *Maize genetics cooperation. News Letter* 68:25-27.

- Laitinen M. J., R. Julkunen-Tiitto and M. Rousi. 2002. Foliar phenolic composition of European white birch during bud unfolding and leaf development. *Physiologia Plantarum*. 114:450-460.
- Langmeier M., S. Ginsburg and P. Matile. 1993. Chlorophyll breakdown in senescent leaves: demonstration of Mg-dechelataase activity. *Physiologia Plantarum*. 89:347-353.
- Li Z., H. Gemma and S. Iwahori. 2002. Stimulation of 'Fuji' apple skin color by ethephon and phosphorus-calcium mixed compounds in relation to flavonoid synthesis. *Scientia Horticulturae*. 94:193-199.
- Lichtenthaler K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. p. 350-352. *In: Methods in Enzymology*. Ed. L. Packer and R. Douce. Academic Press Inc.
- Lister, C. E. and J. E. Lancaster. 1996. Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity and its relationship to anthocyanin and flavonoid levels in New Zealand-grown apple cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121(2):281-285.
- Martínez, M. 1995. Manual Práctico de Producción de Nochebuena. Consultoría OASIS. Morelos, México. 87 p.

- Martínez, S. 1996. Evaluación de mezclas de sustratos y sus componentes en flor de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd) cv. Freedom. Tesis de Licenciatura. Depto. de Fitotecnia. UACH. Chapingo, México.
- McClure, J. W. 1979. The Physiology of Phenolic compounds in plants. p. 525. In: Biochemistry of plant phenolics. Recent advances in Phytochemistry. Eds. Swain T., J. B. Harborne and C. F. Van Sumere. Vol. 12. Plenum Press. New York, USA.
- Nell T., A. and J. E. Barrett. 1986. Growth and incidence of bract necrosis in 'Gutbier V-14 Glory' poinsettia. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:266-269.
- Nowak, J., and R. M. Rudnicki. 1990. Postharvest Handling and Storage of Cut Flowers, Florist Greens and Potted Plants. Chapman and Hall. London, UK. 210 p.
- Ohtsuka, O., H. Ito and A. Tanaka. 1997. Convesión of chlorophyll b to chlorophyll a and the assembly of chlorophyll with apoproteins by isolated chloroplasts. *Plant Physiology*. 113:137-147.
- Pérez, G. F., y J. B. Martínez-Laborde. 1994. Introducción a la Fisiología Vegetal. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 218 p.

- Piekielek, W.P. and R.H. Fox. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict nitrogen requirements for maize. *Agron. J.* 84: 59-65.
- Quintanar, A. F. 1961. Las Plantas Ornamentales (Floricultura). Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 165 p.
- Rodríguez F., A. Fierro, y M. González. 2000. Dos sistemas de riego en la producción de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) en campo experimental de la UAM-X. Artículo: ANEI-S10006 del X Congreso Nacional de Irrigación. Chihuahua, Chihuahua, México. del 16 al 18 de agosto.
- Salisbury, F. B. y W. Ross. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica. México D. F. 759 p.
- Sandmann, G. 2000. Carotenoid Biosynthesis and Biotechnological Application. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385:4-12.
- SAS. 1989. SAS Procedures Guide Version 6.04. SAS Institute. Cary, North Carolina, USA.

- Shaked-Sachray L., D. Weiss, M. Reuveni, A. Nissim-Levi and M. Oren-Shamir. 2002. Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to magnesium treatment. *Physiologia Plantarum*. 114:559-565.
- SEDAGRO. 2002. Comunicado 1583. Obtenido de la web. www.edomexico.gob.mx.
- Shanks, J. B. 1980. Poinsettias-Nochebuenas. p. 273-295. *In*: Introduction to Floriculture. Larson, R. A. (Ed.). Academic Press. New York. USA.
- Shuch, U., R., A. Redak, and J. Bethke. 1995. Whole-plant response of six poinsettia cultivars to three fertilizer and two irrigation regimes. *J. Amer. Soc Hort. Sci.* 12:69-76.
- Stewart, R. N., S. Asen, D. R. Massie and K. H. Norris. 1980. The identification of poinsettia cultivars by HPLC analysis of their flavonol content. *Biochemical Systematics and Ecology*. 8:119-125.
- Strack D., and R. Wray. 1994. The anthocyanins. p. 1-22. *In*: The Flavonoids: advances in research since 1986. J. B. Harborne (editor). 1st Edition. Chapman & Hall. Great Britain.

- Tanaka R. and A. Tanaka. 1996. Chlorophyll b is not just an accessory pigment but a regulator of the photosynthetic antenna. *J. Biol. Chem.* 271:1475-1479.
- Valencia, O. C. 1995. Fundamentos de Fitoquímica. Primera edición. Editorial Trillas. México. p. 99.
- Vicentini F., S. Hortensteiner S., M. Schellenberg, H. Thomas and P. Matile. 1995. Chlorophyll breakdown in senescent leaves: identification of the biochemical lesion in a stay-green genotype of *Festuca pratensis* Huds. *New Phytologist*. 129:247-252.
- Villegas, R. 1998. Determinación del número de noches largas necesarias para inducir la floración y pigmentación de brácteas en el cultivo de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd) cv. Supjibi. Tesis de Licenciatura. Depto. de Fitotecnia, UACH. Chapingo, Estado de México.
- Waterman P. G. and S. Mole. 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK. 238 p.
- Witaszek W. and K. Mynett. 1989. Light and growth regulators in the cuttings production of poinsettia / *Euphorbia pulcherrima* / mother plants. *Acta Horticulturae* 251:315-318.

Yadava, V.L. 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Hort. Science* 21: 1449-1495.

Yang, C. M., J. C. Hsu, and Y. R. Chen. 1995. Light-sensitivity of chlorophyll formation in the leaves of *Ficus microcarpa* cv. Golden-leaves. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 36:215-221.

ANEXO

Cuadro 1A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Cuautla en plantas del cultivar “Mármol”.

	Unidades SPAD
Clorofila total	$\delta=0.24288$
	$\alpha=0.3164$

δ =Coeficiente de correlación de Pearson.
 α =Nivel de significancia.

Cuadro 2A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Cuautla en plantas del cultivar “Supjibi”.

	Unidades SPAD
Clorofila total	$\delta=0.37965$
	$\alpha=0.0987$

δ =Coeficiente de correlación de Pearson.
 α =Nivel de significancia.

Cuadro 3A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Cuautla en plantas del cultivar V-17 “Angelika”.

	Unidades SPAD
Clorofila total	$\delta=0.41919$
	$\alpha=0.0658$

δ =Coeficiente de correlación de Pearson.
 α =Nivel de significancia.

Cuadro 4A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Texcoco en plantas del cultivar "Mármol".

	Unidades SPAD
Clorofila total	$\delta=0.18177$
	$\alpha=0.4431$

δ =Coeficiente de correlación de Pearson.
 α =Nivel de significancia.

Cuadro 5A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Texcoco en plantas del cultivar "Supjibi".

	Unidades SPAD
Clorofila total	$\delta= -0.50374$
	$\alpha=0.0235$

δ =Coeficiente de correlación de Pearson.
 α =Nivel de significancia.

Cuadro 6A. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de clorofila total y las unidades SPAD de la localidad de Texcoco en plantas del cultivar V-17 "Angelika".

	Unidades SPAD
Clorofila total	$\delta=0.20553$
	$\alpha=0.3847$

δ =Coeficiente de correlación de Pearson.
 α =Nivel de significancia.